

Aus der Klinik für Nephrologie der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Lars Christian Rump

Der Einfluss des Immunsystems auf das Ergebnis der renalen Denervation bei  
therapierefraktärer Hypertonie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
Philipp Heilmann  
2021

als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: PD Dr. med. Johannes Stegbauer

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Roland Fenk

## Zusammenfassung

Die Hypertonie ist einer der entscheidenden Risikofaktoren in Hinblick kardiovaskulärer Mortalität und Morbidität. Einen vielversprechenden interventionellen Ansatz zur Reduktion des Blutdrucks bei therapieresistenter Hypertonie stellt die renale Denervation (RDN) dar. Unklar bleibt der zugrundeliegende Mechanismus. Neuere Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass das Immunsystem einen Einfluss auf die Hypertonie hat. In dieser Arbeit wurden daher bei 28 Patienten, die im Rahmen des GREAT Registers renal denerviert wurden, Inflammationsparameter vor und nach der RDN bestimmt und mit einer gesunden Kontrolle verglichen (n=17). Außerdem wurde vor und nachher eine T-Zell Subtypisierung durchgeführt. Es konnte eine signifikante Blutdruckreduktion (167/90mmHg vs. 149/82mmHg) mit einem Ansprechen von 66% nachgewiesen werden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe hatten die Hypertoniker signifikant höhere CrP, TNF- $\alpha$  und IL-6 Werte. Bei den Respondern konnte ein signifikanter Abfall nach 6 Monaten beobachtet werden (CRP 42%, IL-6 31%, p < 0,05). Responder hatten signifikant weniger naive CD4<sup>+</sup>-Zellen (16,25%,  $\pm$ 11,4 % vs. 26,7%  $\pm$ 8,6%, p < 0,05) und ein Anstieg nach 6 Monaten (+19,8%,  $\pm$ 14,2%, p<0,05). Non-Responder zeigten im Vergleich zu Respondern erhöhte CD8<sup>+</sup>T<sub>EMRA</sub>-Zellen, die mehr IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  produzierten. Die Ergebnisse belegen, dass die RDN in 2/3 zu einer Blutdruckreduktion führt. Es konnte gezeigt werden, dass eine therapieresistente Hypertonie mit erhöhten Inflammationsparameter einhergeht und dass eine erfolgreiche renale Denervation diese günstig beeinflussen vermag. Es ergaben sich Hinweise, dass die T-Zellsubtypisierung zwischen Respondern und Non-Respondern einer RDN Unterschiede aufweist und dass eine RDN mit Veränderung in der T-Zellsubtypisierung assoziiert ist. Die Ergebnisse unterstützen die Vermutung, dass das Immunsystem ein Vermittler für den Sympathikus in der Dysregulation des Blutdrucks darstellt. Unterschiede in den T-Zellsubtypen könnte als Prädiktor für die Auswahl

geeigneter Patienten herangezogen werden. Weitere Arbeiten sind nötig, um die Rolle der T-Zelltypen bei der Hypertonie besser zu verstehen

## Summary

In relation to cardiovascular mortality and morbidity, arterial hypertension is one of the most important risk factors. A promising interventional approach to reduce blood pressure is the renal denervation (RDN). Still, the underlying mechanism remains uncertain. Recent research results suggest the immune system to be substantial on developing and maintaining hypertension. This paper investigates, on the basis of 28 patients who underwent renal denervation within the GREAT Register. Inflammation markers before and after RDN and compares them to a normotensive control group (n=17). Furthermore subtypes of lymphocytes were examined before and 6 months after RDN. There was a significant reduction of blood pressure (167/90mmHg vs. 149/82mmHg) with a response of 66%. In comparison to the control group hypertensive patients had significantly higher levels of CRP, TNF- $\alpha$  und IL-6. In the responder group a significant decrease of CRP and IL-6 after 6 months could be observed (CRP 42%, IL-6 31% p < 0,05). The responder group had significantly less count of naive CD4<sup>+</sup>-cells (16,25%,  $\pm$ 11,4 % vs. 26,7%  $\pm$ 8,6%, p < 0,05) and an increase after 6 months (+ 19,8%,  $\pm$ 14,2%, p < 0,05). Within CD8<sup>+</sup>-cells the non-responder group had a higher count of T<sub>EMRA</sub>-cells generating more IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ . The results of this work show that renal denervation leads to reduction in blood pressure in two thirds. It has been demonstrated, that patients with resistant hypertension show increased

parameter of inflammation and a successful renal denervation has a propitiously influence. Furthermore the results provide information, that the T-cell-subtypes differs between responder and non-responder of a renal denervation and that a renal denervation is associated with changes in the T-cell subtypes. The results support the assumption of the immune system as a mediator of the sympathetic nervous system in the dysregulation of blood pressure. The differences of T-cell-subtypes could be helpful as a predictor for the selection of appropriate patients. Further studies are needed to help understand the role of T-cell subtypes in hypertension.

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
A.	Arterie
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
AP1	Activator Protein 1
BMI	Body Mass Index
CD	Cluster Of Differentiation
CRP	C-reaktives Protein
DASH	Dietary Approach to Stop Hypertension
dl	Deziliter
DMSA	Dimercaptobernsteinsäure

DOCA	Deoxycorticosteron
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eGFR	estimated glomerular filtration rate
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eNOS	Endotheliale NO-Synthase
ESH	European Society of Hypertension
ESC	European Society of Cardiology
FCM	Flow Cytometry
FL	fluorescent light
FSC	Forward Angle Light Scatter
GREAT	German Renal Denervation Registry
h	Stunde
HbA <sub>1c</sub>	Glykiertes Hämoglobin
HDL	High-density-Lipoprotein
HSA	Humanes Serum Albumin
IFN- $\gamma$	Interferon Gamma
IgG	Immunglobulin G
IL	Interleukin
IsoLG	Isolevuglandine
LCA	Leukocyte common antigen
LDL	Low-density-Lipoprotein
l	Liter

m	Meter
m <sub>2</sub>	Quadratmeter
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MR	Mineralokortikoidrezeptor
NFAT <sub>1</sub>	Nuclear Factor Of Activated T Cells 1
Ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NT-ProBNP	N-terminal pro-B-type natriuretic peptide
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PBS	posphate buffered saline
pg	Piccogramm
RAG <sub>1</sub>	Recombination-activating Gene 1
RAAS	Renin Angiotensin Aldosteron System
RDN	renale Denervation
rpm	runs per minute
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RVLM	rostrale ventrolaterale Medulla
SCID	Sever Combined Immunodeficiency

sec	Sekunde
SSC	Side Angle Light Scatter
Th	thorakal
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose Faktor Alpha
T <sub>CM</sub>	Central Memory T Cell
T <sub>EM</sub>	Effector Memory T Cell
T <sub>EMRA</sub>	Terminally Differentiated Effector Memory T Cell
T <sub>reg</sub>	Regulatory T Cell
WHO	World Health Organisation

## Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
Arterielle Hypertonie	1
Therapieresistente Hypertonie	2
Die Blutdruckregulation	4
Die Rolle des Sympathikus bei der Hypertonie	5
Die renale sympathische Innervation	6
Pathophysiologische Aspekte der gesteigerten renalen sympathischen Aktivität	8
Die renale Denervation	9
Die Rolle des Immunsystems bei der Hypertonie	13
Einfluss des adaptiven Immunsystems	14
Einfluss des angeborenen Immunsystems	16
Die Verbindung zwischen Immunsystem und Niere	18

Die Verbindung zwischen sympathischer Aktivität und Immunsystem	20
Einfluss der renale Denervation auf das Immunsystem	22
Ziele der Arbeit	24
Material und Methoden	24
Patientenauswahl	24
Studienablauf	25
Patienten Rekrutierung	25
Einschlusskriterien (GREAT Register)	26
Ausschlusskriterien (GREAT Register)	27
Baseline-Untersuchungen	28
Eingriffsprotokoll der renalen Denervation	29
Nachuntersuchung	31
Statistische Analyse	31
Inflamationsparameter	32
Quantikine® Human CRP/ TNF- $\alpha$ / IL-6 Immunoassays	32
Testprinzip	33
Testdurchführung	34
Immunphänotypisierung der Lymphozyten mit Hilfe der Durchflusszytometrie	35
Probenvorbereitung	39
Messung im Mehrfarben-Durchflusszytometer	41
Testprinzip	41
Datenauswertung	44
Ergebnisse	45
Stichprobenkollektiv	45
Einfluss der renalen Denervation auf den Blutdruck	45
Vergleich der Inflammationparameter der Kohorte mit einer Kontrollgruppe	52
Vergleich der Inflammationsparameter zwischen Responder und Non-Responder	53
Effekte der RDN auf die T-Zell Funktion	56

Vergleich der CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> - Zelldifferenzierung zwischen Responder und Non-Responder	56
Vergleich der CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> - Zelldifferenzierung zwischen Responder und Non-Responder	58
Vergleich der Zytokinausschüttung der CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> -Zellen zwischen Responder und Non-Responder	59
Diskussion	60
Einfluss der renalen Denervation auf den Blutdruck	62
Einfluss der renalen Denervation auf inflammatorische Prozesse der Hypertonie	65
Einfluss der renalen Denervation auf die T-Zell Subtypisierung	68
Schlussfolgerung	69

# Einleitung

## Arterielle Hypertonie

Bluthochdruck stellt einen der wesentlichen Risikofaktoren kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität dar. Die WHO schätzt, dass ca. 54% der Schlaganfälle und 47% der ischämischen Herzerkrankungen direkt auf die arterielle Hypertonie zurückzuführen sind. Weltweit gesehen sind circa 25% der erwachsenen Bevölkerung betroffen <sup>1</sup>.

Nach der aktuellen Leitlinie der europäischen Gesellschaft für Hypertonie (ESH) und der europäischen Gesellschaft für Kardiologie von 2018 ist die Hypertonie definiert als ein Blutdruck über 140/90mmHg <sup>2</sup>. In Deutschland liegt die Prävalenz nach dieser Definition bei ca. 30%. Ein Blutdruck >140/90mmHg trotz Therapie kommt immerhin bei 15% der Deutschen vor. In der Gruppe der männlichen 18-29-Jährigen zeichnet sich sogar eine steigende Prävalenz ab <sup>3</sup>.

Lebensstilveränderungen können als nicht medikamentöse Maßnahme den Blutdruck und das kardiovaskuläre Risiko senken. Zu den empfohlenen Maßnahmen gehört eine Salz Restriktion, eine Einschränkung des Alkoholkonsum, Gewichtsreduktion mit dem Ziel des Idealgewichts, regelmäßige körperliche Aktivität und eine vornehmlich pflanzliche Ernährung <sup>4</sup>. Einen nachgewiesenen blutdrucksenkenden Effekt hat die von der nationalen Herz-, Lungen und Blutinstitut (NHLBI) entwickelten DASH Diät (Dietary Approach to Stop Hypertension), die salzarm ist und sich durch einen hohen Anteil an Gemüse und Früchten auszeichnet <sup>5</sup>. In der Regel ist eine zusätzliche medikamentöse Therapie notwendig, um

eine dauerhafte adäquate Blutdruckkontrolle zu erreichen. Im Laufe der Jahre wurden Antihypertensiva mit jeweils unterschiedlichen Wirkmechanismen entwickelt. Zur Therapie der ersten Wahl gehören langwirksame Calcium-Kanal Blocker (Dihydropyridin-Typ), Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitoren (ACE-Hemmer) oder Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten und Thiazid-Diuretika. In den meisten Fällen liegt eine sogenannte essentielle Hypertonie vor, bei der eine eindeutige Ursache des Bluthochdrucks nicht gefunden werden kann. Die Erkrankung ist aber mit Alter, Insulin-Resistenz, Fettstoffwechselstörung und Salzkonsum assoziiert <sup>6</sup>. Von einer kontrollierten Hypertonie wird gesprochen wenn der Blutdruck mittels medikamentöser Behandlung auf Werte <140/90mmHg bzw. in den jeweiligen Zielbereich gesenkt werden kann. Oft ist der Blutdruck allerdings nicht hinreichend kontrolliert.

### Therapieresistente Hypertonie

Kann der Blutdruck trotz Kombination von <sup>3</sup>3 Blutdruckmitteln in maximal tolerierter Dosis inklusive eines Diuretikums nicht kontrolliert werden, spricht man von einer therapieresistenten Hypertonie. Da in der Vergangenheit die Definition nicht einheitlich benutzt wurde bleibt die Häufigkeit der therapieresistenten Hypertonie unklar.

In der Literatur ist eine große Variabilität der Prävalenz zwischen 2% und 44% zu finden, je nachdem wie die therapieresistente Hypertonie definiert wird. Auch Unterschiede der untersuchten Populationen tragen zur Variabilität bei. Häufig sind es Patienten mit einer

chronischen Nierenerkrankung, die an einer therapieresistenten Hypertonie leiden. In der  
Zunächst muss eine echte Therapieresistenz von einer Pseudoresistenz unterschieden  
werden. Beispielweise werden Patienten fälschlicherweise als therapieresistent eingestuft,  
die im Sinne einer sogenannten "Weißkittelhypertonie" lediglich erhöhte Praxisblutdrücke  
haben. In der Langzeitmessung im häuslichen Umfeld hingegen ist der Blutdruck gut  
eingestellt. Bei der Überprüfung der Medikation muss auf eine adäquate Verteilung der  
Dosis über den Tag geachtet werden. Zudem sollte immer die Therapieadhärenz überprüft  
werden. Werden neben den Antihypertensiva weitere Medikamente eingenommen kann  
eine Therapieresistenz auch durch einen blutdrucksteigernden Effekt der Komedikation  
bedingt sein. Eine therapieresistente Hypertonie kann auch durch einen exzessiven  
Salzkonsum bedingt sein. Außerdem muss auch an sekundäre Hypertonieformen mit  
behandelbarer Ursache gedacht werden. Dazu zählen endokrine Störungen wie der  
primäre Hyperaldosteronismus, das Phäochromozytom oder der Hyperkortisolismus.  
Eine hochgradige Nierenarterienstenose sollte ebenfalls ausgeschlossen werden. In sehr  
seltenen Fällen kommen auch angeborene monogenetische Erkrankungen in Betracht.  
Wie schon erwähnt sind oft Patienten mit einer chronischen Nierenerkrankung im Sinne  
einer renoparenchymatösen Hypertonie therapieresistent. Auch ein nicht behandeltes  
Schlafapnoesyndrom ist gehäuft bei therapieresistenter Hypertonie zu finden.  
Assoziationen zu Alter, männlichem Geschlecht, schwarzer Hautfarbe, Diabetes mellitus  
und hohem BMI konnten Thomas et al. in Ihrer Arbeit finden <sup>9</sup>.

## Die Blutdruckregulation

Der Blutdruck ergibt sich aus dem Herzzeitvolumen und dem Gefäßwiderstand. An der Regulation, mit dem Ziel den Blutdruck konstant zu halten sind im Wesentlichen folgende Systeme beteiligt, die sich wechselseitig beeinflussen und einen Regelkreis bilden:

1. Das vegetative Nervensystem mit den Komponenten Sympathikus und Parasympathikus ist in der Lage über Volumen- und Druckrezeptoren Schwankungen des effektiven Blutvolumens bzw. Blutdrucks zu registrieren und bei Bedarf über Vasokonstriktion der Widerstandgefäße eine Blutdrucksteigerung zu erreichen. Außerdem wird über die sympathische Nervenaktivität das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) aktiviert, was unter anderem zu einer gesteigerten Natriumrückresorption führt. Das effektive Blutvolumen wird zudem über Steigerung des Schlagvolumens und der Herzfrequenz erhöht. Auf der anderen Seite kann über Vasodilatation der Kapazitätsgefäße das effektive Blutvolumen und somit der Blutdruck verringert werden.
2. Die Nieren reagieren zur Regulation des Blutdrucks auf einen höheren arteriellen Perfusionsdruck mit einer gesteigerten Natriurese. Diese Beziehung wird als Druck-Natriurese bezeichnet und dient der Volumenregulation durch Reduktion des effektiven zirkulierenden Volumens

3. Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS). Wenn sich der renale Perfusionsdruck reduziert wird vom juxtaglomerulären Apparat der Nieren Renin freigesetzt. Die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron Systems führt zur Vasokonstriktion und somit zur Erhöhung des peripheren Widerstands auf der einen und zur Blutvolumenerhöhung durch Natrium/Wasserretention auf der anderen Seite.

### Die Rolle des Sympathikus bei der Hypertonie

Trotz intensiver Forschung ist die Pathogenese der Hypertonie nicht vollständig verstanden. Einigkeit besteht darüber, dass eine Dysregulation in allen, am Regelkreis der Blutdruckkontrolle beteiligten Systemen vorliegt. Zu beobachten ist beispielsweise eine gestörte Druck-Natriuresis der Niere, bei der höhere Perfusionsdrücke notwendig sind, um die gleiche Menge Salz auszuscheiden. Dadurch und durch eine gesteigerte Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems kommt es zu einer renalen Salz- und Wasser-Retention, die einen entscheidenden Faktor bei der Blutdruckentstehung ist.

Gerade bei therapieresistenter Hypertonie scheint aber eine Überaktivität des sympathischen Nervensystems ein wesentlicher Faktor nicht nur bei der Entwicklung, sondern auch bei der Aufrechterhaltung und Progression der Hypertonie zu sein <sup>10, 11, 12</sup>.

Eine Überaktivität des sympathischen Nervensystems trägt nicht nur zur Vasokonstriktion bei, sondern führt auch zu vaskulärem Remodeling und Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen <sup>13</sup>. Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass bei Hypertonie auch eine erhöhte sympathische Aktivität in den Nieren vorliegt <sup>14</sup>. Gerade dieser renalen sympathische Aktivität wird mittlerweile eine Schlüsselposition in der Pathogenese der Hypertonie zugesprochen <sup>15</sup>.

Um die pathophysiologischen Aspekte der gesteigerten renalen sympathischen Aktivität besser zu verstehen soll im Folgenden zunächst die sympathische Innervation der Nieren dargestellt werden.

### Die renale sympathische Innervation

Die efferenten Neuronen des Sympathikus entspringen Kerngebieten des Hirnstamms und des Hypothalamus wie dem Nucleus paraventricularis, der rostralen ventrolateralen Medulla (RVLM) und dem Nucleus tractus solitarii.

Die zweiten Neuronen befinden sich im Nucleus intermediolateralis im Seitenhorn des Rückenmarks und werden im Grenzstrang Th<sub>12</sub>-L<sub>1</sub> auf Neuronen verschaltet deren postganglionären Fasern die Niere innervieren <sup>16</sup>. Die Nierennerven verlaufen in der Adventitia der Nierenarterien und treten am Nierenhilus in die Niere über. Intrarenal

werden efferent die Zellen des juxtaglomerulären Apparates, das Tubulussystem sowie die renalen Gefäße sympathisch innerviert.

Die Reninausschüttung aus den Zellen des juxtaglomerulären Apparates wird unter anderem über das sympathische Nervensystem gesteuert. Über die Frequenz sympathischer Nervenaktivität kann die Natrium- Wasserhomöostase und der renale Blutfluss beeinflusst werden <sup>16</sup>. Mit steigender Frequenz der sympathischen Nervenaktivität steigt die Reninausschüttung und der der renale Blutfluss.

Die Reninausschüttung von Zellen des juxtaglomerulären Apparates wird über  $\beta_1$ -Rezeptoren vermittelt. Die renalen Tubuluszellen besitzen  $\alpha_{1B}$ -Rezeptoren, deren Aktivierung zu einer gesteigerten Natriumrückresorption führt. Die Vasokonstriktion mit konsekutiver Reduktion des renalen Blutflusses wird über  $\alpha_{1a}$ -Rezeptoren gesteuert <sup>17</sup>.

Sensorisch gibt es zwei Arten von Nervenfasern in den Nieren. Fasern mit Nozirezeptoren im renalen Parenchym und Mechanorezeptoren im Nierenbecken liefern Information von der Niere, die über Neuronen des Spinalganglions weitergeben und im Hinterhorn verschaltet werden. Die Fasern der Neurone im Hinterhorn des Rückenmarks ziehen im ZNS zum Organum subfornicale, dem Nucleus paraventricularis, dem Nucleus tractus solitarii und der pontinen noradrenergen Zellgruppe A5 <sup>16</sup>.

## Pathophysiologische Aspekte der gesteigerten renalen sympathischen Aktivität

Wie oben beschrieben liegt bei der Hypertonie und insbesondere der therapieresistenten Hypertonie eine gesteigerte renale sympathische Aktivität vor. Diese führt nicht nur zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Über Stimulation der renalen Tubuluszellen kommt es auch zur einer gesteigerten Natriumrückresorption. Der renale Blutfluss wird über einen vasokonstriktorisches Einfluss auf die renalen Gefäße gedrosselt <sup>17</sup>. Dass das Phänomen einer gestörten Druck-Natriurese mit der renalen tubulären Natriumresorption in Verbindung mit der renalen sympathischen Innervation steht konnte von Roman et al. bereits 1985 gezeigt werden <sup>18</sup>.

Gesteigerte afferente Signale und Aktivität der Nozirezeptoren werden bei Hypertonie mit einer erhöhten efferenten Aktivität beantwortet, wobei renale Ischämie bzw. renale Schädigung mit einer gesteigerten afferenten Aktivität einhergehen kann <sup>16</sup>. Das erklärt, warum eine chronisch renale Schädigung als Endorganschaden der Hypertonie zu einer erhöhten sympathischen Aktivität führt, die wiederum die Hypertonie verstärkt. Dass Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz eine gesteigerte sympathische Aktivität haben wurde von Ligtenberg et al. nachgewiesen <sup>19</sup>. Die höchste nachweisbare systemische Aktivität des sympathischen Nervensystems lässt sich bei Patienten mit terminaler Nierenerkrankung an Hämodialyse finden <sup>20</sup>.

## Die renale Denervation

Die selektive Hemmung sympathischer renaler Aktivität stellt somit aus pathophysiologischen Gesichtspunkten einen vielversprechenden therapeutischen Ansatz dar, insbesondere bei Patienten mit einer therapieresistenten Hypertonie, da hierbei mit den etablierten Therapieoptionen wie medikamentöser Hemmung des RAAS oder eine Steigerung der Natriumexkretion durch Diuretika eine adäquate Blutdruckkontrolle nicht gelingt.

Nach erfolgsversprechenden tierexperimentellen Arbeiten veröffentlichte Schlaich et al. 2009 einen Fallbericht über eine renale sympathische Denervation bei einem männlichen Patienten mit therapieresistenter Hypertonie <sup>21</sup>. Die renalen sympathischen Nerven in der Adventitia den Nierenarterien, die sowohl die Afferenzen als auch die Efferenzen enthalten wurden mittels Radiofrequenzablation über einen transfemorale eingelegten und in die jeweiligen Nierenarterien positionierten Katheter ablatiert. Dass das komplikationslose Verfahren eine effektive Unterbindung sympathischer Signalübermittlung darstellte, konnte über die Reduktion des renalen Noradrenalin Überlaufs, der reduzierten Reninsekretion, des Anstiegs des renalen Plasmaflusses sowie mikroneurographisch nachgewiesen werden. Nach der Prozedur zeigte sich bei dem Patienten eine Blutdruckreduktion von 161/107mmHg auf 141/90mmHg nach 30 Tagen auf 137/81mmHg nach 12 Monaten <sup>21</sup>.

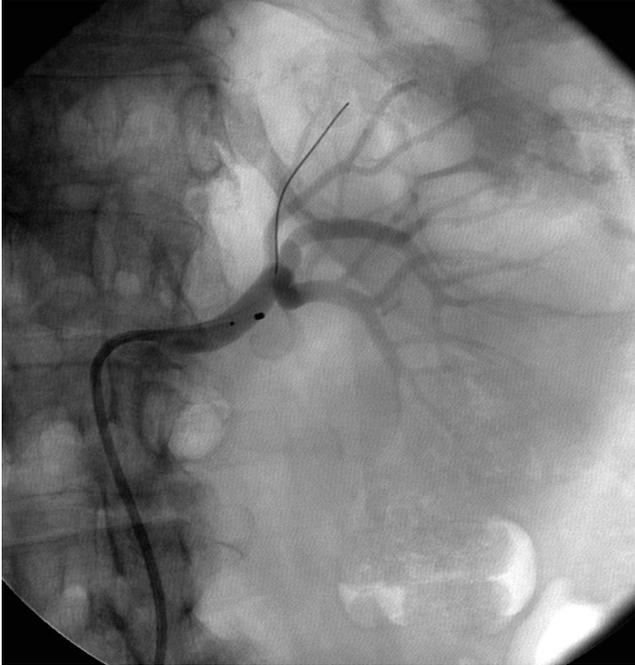


Abb. 1 : Digitale Subtraktionsangiographie (DSA) der linken Niere während der renalen Denervation (Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie, Universitätsklinikum Düsseldorf): Der Führungsdraht des Angiographie Katheters ist in eine Segmentarterie der linken Niere vorgeschoben. Der Ablationskatheter (Symplicity Flex Katheter, Medtronic/Ardian Inc., Minnesota USA) liegt im distalen Anteil der Nierenarterie.

In der daraufhin folgenden proof-of-concept Studie Symplicity HTN-1 mit 45 Patienten konnte gezeigt werden, dass das Verfahren ohne schwerwiegende Komplikationen zur renalen Denervation geeignet ist und zu einer signifikanten und anhaltenden Blutdrucksenkung bei der therapieresistenten Hypertonie führt <sup>22</sup>.

Die offen randomisierte kontrollierte Studie Symplicity HTN-2 bestätigte über einen Beobachtungszeitraum von insgesamt 3 Jahren eine signifikante Blutdrucksenkung durch die Katheter-basierte renale Denervation bei therapieresistenten Hypertonikern <sup>23, 24, 25</sup> .

Kritisiert wurden die geringen Patientenzahl, die fehlende Verblindung sowie die fehlende Sham-Interventionsgruppe. Außerdem wurde bei den Patienten keine einheitliche antihypertensive Medikation durchgeführt.

Die erste randomisierte, Sham-kontrollierte Blindstudie Symplicity-3 HTN mit 535 Patienten konnte eine signifikante Blutdruckreduktion durch die renale Denervation nicht nachweisen <sup>26</sup>. Überraschenderweise zeigte sich sowohl in der Interventionsgruppe als auch in der Kontrollgruppe, die einer Scheinprozedur unterzogen wurden eine signifikante Blutdruckreduktion nach 6 Monaten. In einer post-hoc Analyse von Kandzari et al. wurden zumindest zum Teil prozedurale Mängel der Studie für die unerwarteten Blutdruckänderung in der Interventions- und Kontrollgruppe verantwortlich gemacht. Als Prädiktoren einer Blutdrucksenkung konnte unter anderem die Anzahl der Denervationspunkte und Anzahl der abladierten Quadranten an den Nierenarterien ausgemacht werden. Da die Nierenerven relativ gleichmäßig zirkulär um die Nierenarterie verteilt sind, lässt sich bei einer geringen Anzahl von Denervationspunkten bzw. Ablation in nicht allen Quadranten eine unzureichende Denervation vermuten. Ferner wurde in 39% der Patienten abweichend vom Studienprotokoll die antihypertensive Medikation während des Beobachtungszeitraums geändert <sup>27</sup>.

In zwei folgenden randomisierten Sham-kontrollierten Proof-of-concept Studien konnte der blutdrucksenkende Effekt der renalen Denervation wieder bestätigt werden. 2017 wurde die Studie SPYRAL HTN-OFF MED veröffentlicht. In der Studie wurde bei hypertensiven Patienten ohne antihypertensive Medikation bzw. pausierter Medikation eine signifikante Blutdrucksenkung nach 3 Monaten beobachtet <sup>28</sup>. 2018 folgte SPYRAL HTN-ON MED bei der unter antihypertensiver Medikation mit einem bis drei Medikamenten der blutdrucksenkende Effekt auch nach 6 Monaten nachweisbar war <sup>29</sup>. Die randomisierten Sham-kontrollierte Studie RADIANCE-HTN SOLO wurde ebenfalls 2018 veröffentlicht. Im Gegensatz zum bisherigen radiofrequenzbasierten Verfahren zur Denervation wurde hier ein System getestet, das mit endovaskulärem Ultraschall arbeitet. Auch in dieser Studie wurde in einem Beobachtungszeitraum von 2 Monaten eine signifikante Blutdrucksenkung nach renaler Denervation gezeigt <sup>30</sup>.

Auch wenn die Ergebnisse zum Teil widersprüchlich sind, stellt die renale Denervation weiterhin einen vielversprechenden Ansatz als Therapieoption für Patienten mit resistenter Hypertonie dar. Dennoch bleiben viele Fragen offen. Weiterhin unklar bleibt warum nur ca. zwei Drittel der Patienten von einer renalen Denervation profitieren. Auch ist es nicht geklärt, welche Mechanismen dem blutdrucksenkenden Effekt einer renalen Denervation zu Grunde liegen. Eine mögliche Erklärung ergibt sich aus der, in den letzten Jahren gewachsenen Erkenntnis über die Rolle des Immunsystems bei der arteriellen Hypertonie.

Dass das Immunsystem und chronische Inflammation den Blutdruck ungünstig beeinflussen, wurde schon seit langem vermutet. Wurde anfänglich allerdings noch davon ausgegangen, dass die Aktivierung des Immunsystems die Konsequenz eines dauerhaft erhöhten Blutdrucks darstellt, häufen sich Hinweise, dass es erst über immunologische Mechanismen zur einer Blutdruckerhöhung kommt. So wurde beispielsweise gezeigt, dass immun-vermittelter oxidativer Stress in der Niere interstitielle Inflammation anstößt, die zum Verlust von peritubulären Kapillaren und medullärer Hypoxie führt, was wiederum in einer gestörten Druck-Natriurese und Blutdrucksteigerung resultiert <sup>31</sup>.

### Die Rolle des Immunsystems bei der Hypertonie

Der Großteil der Erkenntnisse über den Einfluss des Immunsystems bei der Hypertonie beruhen auf tierexperimentellen Arbeiten. In der CANTOS Studie von Ridker et al. wurde erstmals in einer randomisierten kontrollierten Studie am Menschen nachgewiesen, dass eine antiinflammatorische Therapie kardiovaskuläre Ereignisse verhindern kann. Die Gabe des IL-1b Antikörpers Canakinumab nach einem Herzinfarkt führte zu einer signifikant reduzierten Rate an kardiovaskulären Ereignissen im Vergleich zu Placebo <sup>32</sup>.

Im Folgenden soll ein genauerer Blick auf die einzelnen Komponenten des Immunsystem und deren möglichen Einfluss auf die Hypertonie geworfen werden.

## Einfluss des adaptiven Immunsystems

Die erste Studie wurde von Guzik et al. 2007 veröffentlicht. Die Arbeitsgruppe arbeitete mit einem Mausmodell, das aufgrund einer RAG1-Deletion keine B- und T-Zellen aufwies. Die Infusion von Angiotensin II führte bei diesen Tieren zu einer abgeschwächten Blutdrucksteigerung. Auch die vaskuläre Endothelfunktion blieb nach Infusion von Angiotensin II oder dem Mineralkortikoid Deoxycorticosteron (DOCA) erhalten. Der adoptive Zelltransfer von T-Zellen wiederum führte zu der hypertensiven Reaktion und vaskulärer Dysfunktion wie es in den Wildtyp Mäusen beobachtet wurde <sup>33</sup>. Crowley et al. konnten den abgeschwächten Effekt von Angiotensin II auf den Blutdruck in einem anderen Lymphozyten-defizienten Mausmodell (SCID Maus) bestätigen <sup>34</sup>.

Auch unter Kochsalzbelastung war in Salz-sensitiven Ratten, die aufgrund einer RAG1Gen Deletion keine Lymphozyten aufweisen ein abgeschwächter Effekt auf den Blutdruck nachweisbar <sup>35</sup>. Eine besondere Rolle scheinen die CD8<sup>+</sup> T-Zellen einzunehmen. So wurde kürzlich herausgefunden, dass CD8<sup>+</sup> T-Zellen den Mineralokortikoidrezeptor (MR) exprimieren und dass dieser über Komplexierung mit nuclear factor of activated T cells 1 (NFAT1) und activator protein 1 (AP1) die IFN- $\gamma$  Produktion anregt. Die Deletion des MR-Rezeptors auf T-Zellen führte zu einer deutlichen herabgesetzten Blutdrucksteigerung unter Angiotensin II Infusion <sup>36</sup>. In einer Arbeit von Youn und Kollegen wurde gezeigt das bei Hypertonikern im Vergleich zur einer entsprechenden Kontrollgruppe mehr

zirkulierende immunoseneszente CD8<sup>+</sup> T-Zellen nachweisbar sind, und dass diese eine erhöhte Produktion von IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Granzym B und Perforin aufweisen <sup>37</sup>.

Über die Produktion von Zytokinen sind auch die CD4<sup>+</sup> T-Zellen an der Hypertonie beteiligt. IL-17, das vor allem von CD4<sup>+</sup> T-Zellen produziert wird, führte im Mausmodell zu einer Blutdrucksteigerung. Die Autoren der Arbeit konnten den Effekt auf eine Hemmung der endothelialen NO-Synthase (eNOS) durch IL-17 zurückführen, so dass die vasodilatatorischen Effekte von NO fehlten <sup>38</sup>. Dass auch menschliche T-Zellen bei der arteriellen Hypertonie aktiviert werden wurde von Itani und Kollegen in einer 2016 erschienen Arbeit demonstriert. In einem Mausmodell, bei dem das murine Immunsystem durch ein humanes Immunsystem ersetzt wurde führte die Blutdrucksteigerung durch Angiotensin II Infusion zu einer Infiltration und Akkumulation von CD4<sup>+</sup> T-Zellen mit vermehrter IL-17 Produktion in Lymphknoten und in den Nieren <sup>39</sup>.

Eine weitere Population von T-Zellen, die an der IL-17 Produktion beteiligt sind ist der geringe Anteil von T-Zellen mit  $\gamma/\delta$ -Rezeptoren, während der Großteil der T-Zellrezeptoren aus  $\alpha/\beta$ -Ketten zusammengesetzt ist. Auch diese Zellpopulation scheint in Zusammenhang mit der Hypertonie wichtig zu sein <sup>40</sup>.

Regulatorische T-Zellen, die circa 10% der CD4<sup>+</sup> T-Zellen ausmachen scheinen hingegen den Blutdruck günstig zu beeinflussen. Im Mausmodell wurde die Kontrollfunktion der sogenannten Treg Zellen auf die hypertensive Immunantwort von Angiotensin II mehrfach nachgewiesen. Es konnte gezeigt werden, dass Treg Zellen nicht nur einen hemmenden

Effekt auf die hypertensive Wirkung von Angiotensin haben, sondern auch die damit einhergehende endotheliale Dysfunktion und Immunzellinfiltration reduzieren <sup>41</sup>.

Aber auch B-Zellen und ihre Antikörper können an der Pathogenese der Hypertonie beteiligt sein. So fand sich in Angiotensin II induzierten hypertensiven Mäusen eine erhöhte Anzahl von aktivierten B-Zellen in der Milz sowie eine erhöhte Konzentration zirkulierendem IgG mit Ablagerung in der aortalen Adventitia. Nach Gabe eines depletierenden B-Zell Antikörpers (Anti-CD20) konnte der blutdrucksteigernde Effekt von Angiotensin II abgeschwächt werden <sup>42</sup>. Beim Menschen wurden zudem spezifische Antikörper gegen den Angiotensin-Typ 1-Rezeptor gefunden, die über eine agonistische Wirkung zu hypertensiven Zuständen führen <sup>43</sup>.

### Einfluss des angeborenen Immunsystems

Nicht nur das adaptive sondern auch das angeborene Immunsystem scheint eine pathogenetische Rolle bei der Hypertonie zu spielen.

Der Einfluss von Monozyten auf den Blutdruck wurde unter anderem von Wenzel und Kollegen 2015 beleuchtet. Mäuse, die mithilfe von Diphtherie Toxin Monozyten depletiert wurden, waren vom blutdrucksteigernden Angiotensin II Effekt geschützt <sup>44</sup>.

Mithilfe von mehreren Mausmodellen konnten Kibaro und Kollegen zeigen, dass es in dendritischen Zellen von hypertensiven Mäusen über reaktive Sauerstoffspezies (ROS) zur verstärkten Bildung von Isoleuglandinen (isoLG) kommt. IsoLGs sind Protein-Addukte mit

Lysin-Modifikation von Ketoaldehyd-Isomeren aus Arachidonsäure. Die Akkumulation von IsoLGs in den dendritischen Zellen war mit der Produktion Zytokinen (IL-6, IL-1 $\beta$  und IL23) und Expression kostimulatorischer Proteine CD80 und CD86 auf der Zelloberfläche assoziiert. Die so aktivierten dendritischen Zellen führten zur T-Zell Proliferation, vor allem von CD8<sup>+</sup> Zellen mit IFN- $\gamma$  und IL-17A Produktion. Der adoptive Transfer der aktivierten dendritischen Zellen führte zu einer übermäßigen hypertensiven Reaktion auf subklinischen Angiotensin Infusionen in den Empfänger Mäusen <sup>45</sup>.

Einen regulatorischen Einfluss konnte von myeloiden Suppressorzellen nachgewiesen werden. Diese heterogene Gruppe, unreifer myeloischer Zellen sind in der Lage die T-Zell vermittelte Immunantwort zu unterdrücken. Im hypertensiven Mausmodell war die Zellreihe vermehrt in der Zirkulation nachweisbar und die Fähigkeit die T-Zell Aktivierung zu unterdrücken war unter hypertensiven Bedingungen verstärkt. Eine Inhibition der Zellen verstärkte die Blutdrucksteigerung <sup>46</sup>.

Abbildung 2 fasst die jeweiligen Zellpopulationen des adaptiven wie angeborenen Immunsystems und ihre Effektormechanismen auf die Hypertonie zusammen.

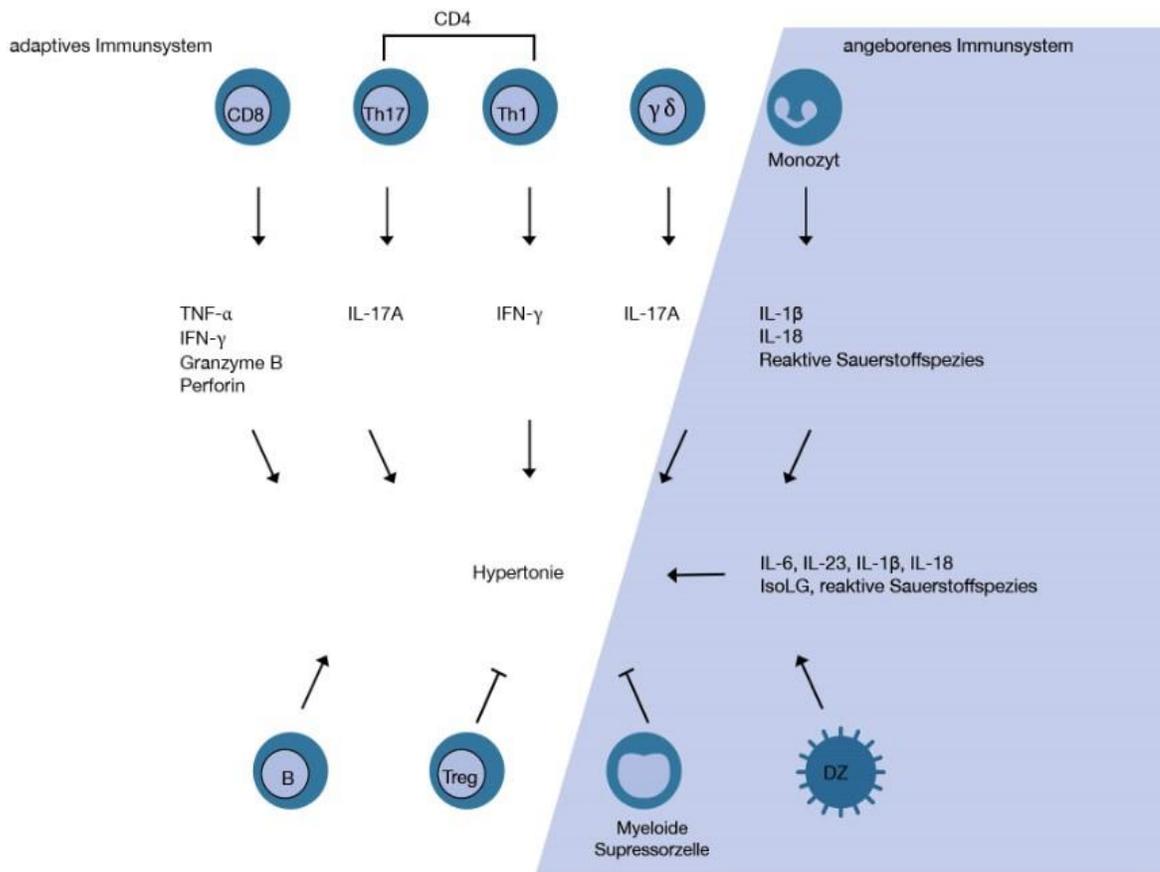


Abb. 2: Immunzellen des angeborenen und adaptiven Immunsystems und deren Zytokine, die an der Hypertonie beteiligt sind, modifiziert nach <sup>47</sup>.

### Die Verbindung zwischen Immunsystem und Niere

In den Nieren von hypertensiven Mäusen konnte eine vermehrte Infiltration von CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen mit erhöhter IFN-γ Produktion nachgewiesen werden <sup>48</sup>.

Ebenso kommt es zur Infiltration von antigenpräsentierenden Zellen wie Monozyten und dendritischen Zellen. Über Aktivierung des Inflammasoms, ein zytoplasmatischer Proteinkomplex in monozytären Zellen, der im Rahmen von Entzündungsreaktionen

gebildet wird, scheinen die Zytokine IL-1 $\beta$  und IL-18 an Hypertonie, Mikroinflammation und Fibrose beteiligt zu sein <sup>49</sup>. Über Zytokine wird auch die Expression und Aktivität verschiedener Natriumtransporter im Nephron reguliert. Hierdurch kommt es zur gesteigerten Natrium/Wasserrückresorption mit konsekutiver Blutdrucksteigerung <sup>50</sup>. Des Weiteren akkumulieren zytokinproduzierende Immunzellen im perivaskulären Fettgewebe und in der Adventitia der Blutgefäße. Interessanterweise scheint im Tiermodell das vom perivaskulären Fettgewebe produzierte, Chemokin RANTES teilweise für die Infiltration von insbesondere T-Zellen verantwortlich zu sein <sup>51</sup>. Zytokine der Immunzellen stimulieren die glatten Muskelzellen und Endothelzellen zur Produktion von Sauerstoffradikalen, was die Verfügbarkeit von NO reduziert und somit den Gefäßtonus erhöht <sup>52</sup>.

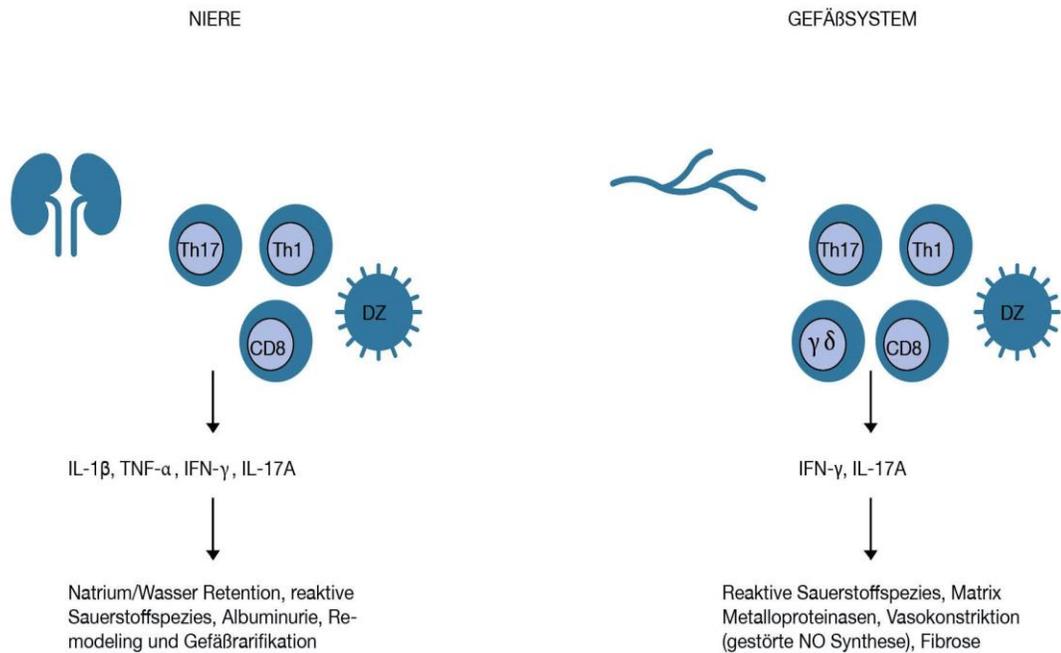


Abb. 3: Zytokin vermittelte Beeinflussung des Immunsystems von Niere und Gefäßsystem bei der Hypertonie, modifiziert nach <sup>47</sup>.

### Die Verbindung zwischen sympathischer Aktivität und Immunsystem

Es kann vermutet werden, dass die initiale Aktivierung der Immunsystems in der frühen

Phase der Hypertonieentwicklung vorrangig durch die erhöhte sympathische Aktivität bedingt ist. Zumindest im Tiermodell werden die primären und sekundären lymphatischen Organe ausschließlich sympathisch innerviert <sup>53</sup>, wobei die Enden der Noradrenalinproduzierenden Neuronen in unmittelbarer Nähe zu den Lymphozyten liegen. In diesen sogenannten neuroimmunen Synapsen sind Lymphozyten hohen Konzentrationen von Noradrenalin ausgesetzt <sup>54</sup>.

Auf die Funktion von CD<sub>4</sub><sup>+</sup> T- Zellen und B-Lymphozyten hat der Sympathikus über die Stimulation von  $\beta_2$ -Adrenorezeptoren Einfluss <sup>55</sup>. Die Stimulation von  $\alpha_1$ -Rezeptoren auf Monozyten und Makrophagen hat ebenfalls pro-inflammatorische Effekte und steigert die Expression von dem inflammatorischen Zytokin Il-1 $\beta$  <sup>56</sup>. Auch dendritische Zellen unterliegen dem Einfluss sympathischer Aktivität. So konnte gezeigt werden, dass Noradrenalin dendritische Zellen zur Expression eines spezifischen Zytokinmusters und co-stimulatorische Signale anregt, die zur T-Zellproliferation führen <sup>57</sup>.

Auch ist die sogenannte Neuroinflammation ein typisches Merkmal der Hypertonie. Hier wurde gezeigt, dass die gesteigerte sympathische Aktivität bei Hypertonie im Knochenmark zur Ausbildung von myeloiden Progenitorzellen führt, die zur peripheren Inflammation beitragen und ins Gehirn migrieren wo eine Differenzierung zu Mikroglia stattfindet, was eine Neuroinflammation unterhält <sup>58</sup>. Ferner kann durch eine zentrale Hemmung des Sympathikus im Organum subfornicale die T-Zell Aktivierung bei Hypertonie reduziert werden. Umgekehrt führt eine Steigerung der sympathischen Aktivität zu einer erhöhten T-Zell Aktivierung <sup>59, 60, 61</sup>.

## Einfluss der renale Denervation auf das Immunsystem

Xiao und Kollegen konnten zeigen, dass eine beidseitige Denervation renaler Arterien im Mausmodell nicht nur die hypertensive Antwort von Angiotensin II Infusion abschwächt, sondern auch mit einer verringerten Gesamt-Leukozytenzahl und verringerter Akkumulation von T-Zellen, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>- und CD<sub>8</sub><sup>+</sup>-Zellen in den Nieren führt. Dies war assoziiert mit einer reduzierten renalen Fibrose und Albuminurie. Die renale Denervation verhinderte auch die hypertensiven Effekte auf dendritischen Zellen. Interessanterweise hatte die selektive Unterbrechung der afferenten Nervenfasern mittels Capsaicin keinen Einfluss auf Blutdruck oder renale Inflammation <sup>57</sup>.

Beim Menschen konnte kürzlich von Zaldivia et al. nachgewiesen werden, dass die Hemmung der renalen sympathischen Aktivität durch eine renale Denervation neben der Blutdruckreduktion assoziiert war mit einer Reduktion der Monozyten Aktivierung und inflammatorischen Markern <sup>62</sup>.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass neben den bisherigen klassischen Einflussfaktoren auf die Bluthochdruckentstehung von einer immun-vermittelten Inflammation, die in wechselseitiger Verbindung zum Sympathikus steht, als weiterer

Einflussfaktor auf die Hypertonie ausgegangen werden muss (Abb.4).

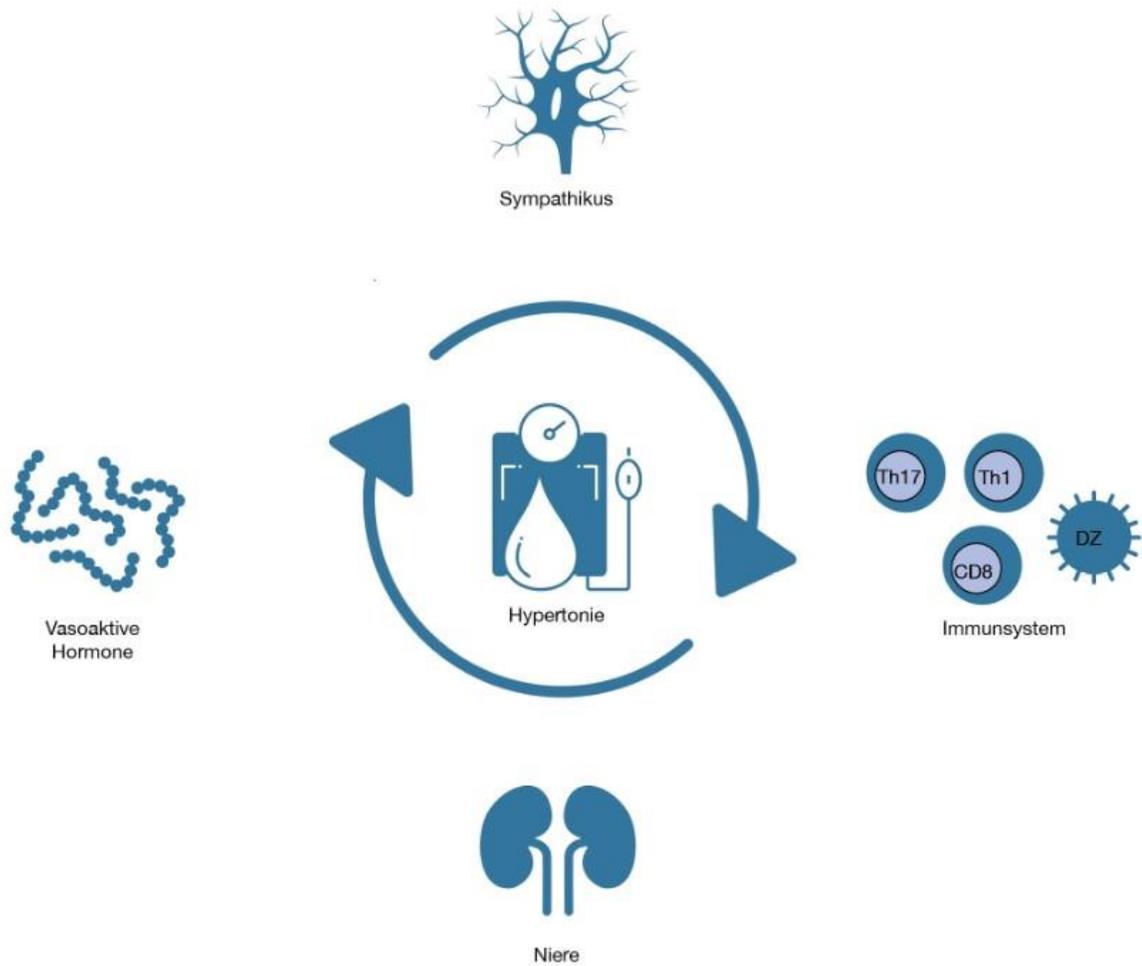


Abb. 4: Wechselseitige Beziehung der an der Hypertonie beteiligten Systeme

## Ziele der Arbeit

Bei der therapieresistenten Hypertonie spielt die gesteigerte Aktivität des sympathischen Nervensystem eine entscheidende Rolle. Die renale Denervation stellt daher einen vielversprechenden Ansatz dar. Unklar bleibt warum nur ca. zwei Drittel der Patienten auf eine renale Denervation ansprechen. Neben des Sympathikus rückt auch immer mehr das Immunsystem in den Fokus der Hypertonieforschung. Wie oben beschrieben gibt es viele Hinweise auf eine pathogenetische Rolle des Immunsystems bei Hypertonie und dass zumindest teilweise der blutdrucksteigernde Effekt sympathischer Aktivität über eine Modulation des Immunsystem vermittelt wird. Ziel der Arbeit ist es zu zeigen, dass bei Patienten mit therapieresistenter Hypertonie im Vergleich zu Gesunden eine chronische Inflammation vorliegt, sich diese durch eine renale Denervation reduzieren lässt sowie zu untersuchen welche Veränderungen in der T-Zell Subtypisierung als wesentlicher Bestandteil des adaptiven Immunsystems mit einer renalen Denervation assoziiert sind.

## Material und Methoden

### Patientenauswahl

Die Auswahl der Patienten erfolgte von November 2009 bis April 2014 im Rahmen der Rekrutierung für das GREAT Register (German Renal Denervation Registry) sowie aus der

lokalen Registerdatenbank. Die Ein- bzw. Ausschlusskriterien entsprachen denen des GREAT Registers. Die, für die renale Denervation in Frage kommenden Patienten wurden über die Hypertoniesprechstunde der nephrologischen Ambulanz der Klinik für Nephrologie des Universitätsklinikum Düsseldorf ausgewählt. Die Patienten wurden über die Prozedur der renalen Denervation, Erfassung und Auswertung der Daten im Rahmen der verschiedenen Studien aufgeklärt. Das Ethikvotum der Ethikkommission der medizinischen Fakultät lag vor (Ethikvotum Nr. 3848).

## Studienablauf

### Patienten Rekrutierung

In der Hypertoniesprechstunde der nephrologischen Ambulanz der Klinik für Nephrologie des Universitätsklinikums Düsseldorf werden Patienten mit schwereinstellbarer Hypertonie vorstellig. Hier wurde zunächst eine sekundäre Ursache der Hypertonie ausgeschlossen

(primärer Hyperaldosteronismus, hämodynamisch relevante Nierenarterienstenose, Ausschluss bzw. Einstellung einer schlafbezogenen Atemstörung). Im nächsten Schritt wurde die antihypertensive Medikation entsprechend angepasst. Voraussetzung für die weitere Teilnahme war die Einnahme von mindestens drei Antihypertensiva, davon ein Diuretikum.

Die Blutdruckeinstellung wurde nach einer Stabilisierungsphase von einigen Wochen mittels einer 24h-Blutdruckmessung überprüft. Lag der Blutdruck im Mittel über 130mmHg systolisch wurde der Patient als therapieresistent eingestuft.

Nach standardisierten Bedingungen wurde ebenfalls der Praxisblutdruck ermittelt. Lag der systolische Blutdruck  $\geq 160$  mmHg (bzw.  $\geq 150$  mmHg bei Typ 2 Diabetikern) und erfüllte der Patient die sonstigen Einschlusskriterien bzw. kein Ausschlusskriterium des GREAT Registers wurde nach ausführlicher Aufklärung und schriftlichem Einverständnis die renale Denervation geplant.

#### Einschlusskriterien (GREAT Register)

- Systolischer Blutdruck  $\geq 160$  mmHg (bzw.  $\geq 150$  mmHg bei Typ 2 Diabetikern) basierend auf den Durchschnittswert von drei im Prüfzentrum gemessenen ambulanten Blutdruckwerten
- Regelmäßige Einnahme von mindestens 3 Antihypertensiva (davon ein Diuretikum) bei denen mindestens in den letzten 2 Wochen keine Änderungen vorgenommen wurden
- Alter  $> 18$  Jahre
- Der Patient stimmt zu, an allen Studienmaßnahmen teilzunehmen, und ist in der Lage und bereit, eine schriftliche Einverständniserklärung für die Teilnahme an dieser klinischen Studie abzugeben.

## Ausschlusskriterien (GREAT Register)

- Anatomie der Nierenarterien, die für die Behandlung nicht geeignet ist, dazu gehört Hauptnierenarterie < 3 mm oder > 8 mm im Durchmesser oder < 20mm Länge.  
Nierenarterienstenose >50% oder Nierenarterienaneurysma oder Plaques in der Nierenarterie. Vorgeschichte eines früheren Eingriffs an einer Nierenarterie, vorherige Denervation, Ballonangioplastie oder Stentimplantation.  
Hauptnierenarterie versorgt < 75% der Niere.
- Nierenfunktion mit einer GFR nach MDRD von < 45ml/min/1,73m<sup>2</sup>.
- Mindestens ein Krankenhausaufenthalt im letzten Jahr aufgrund einer hypertensiven Krise.
- Mindestens eine orthostatische bedingte Hypotension (Reduktion des systolischen Blutdrucks > 20 mmHg oder diastolischen Blutdruck > 10 mmHg) begleitet mit klinischen Symptomen.
- Diabetes mellitus Typ 1.
- Herzinfarkt, instabile Angina pectoris oder Schlaganfall 6 Monate vor der Screening-Untersuchung oder weit ausgedehnte Arteriosklerose mit dokumentierter intravaskulärer Thrombose oder instabilen Plaques.

- Geplante Operation oder kardiovaskulären Eingriff innerhalb der nächsten 6 Monate.
- Häodynamisch signifikante Herzklappenkrankheit, für die eine Blutdrucksenkung als riskant eingeschätzt werden würde.
- Implantierter Kardioverter-Defibrillator (ICD) oder einen Herzschrittmacher oder irgendein anderes Metallimplantat, dass mit der Magnetresonanz-Bildgebung (MRI) nicht kompatibel ist.
- Ernsthafte Erkrankung, die nach Meinung des Untersuchenden die Sicherheit und/oder Wirksamkeit für den Teilnehmer nachteilig beeinflussen kann.
- Die Patientin ist schwanger, stillt oder plant eine Schwangerschaft.
- Bekannte, ungeklärte Vorgeschichte hinsichtlich Drogenkonsums oder Alkoholabhängigkeit. Patient ist nicht in der Lage, Anweisungen zu verstehen oder zu befolgen oder würde voraussichtlich die Anforderungen der Studiennachsorge nicht erfüllen bzw. dazu nicht fähig sein.
- Der Patient ist derzeit in eine andere Arzneimittel- oder Medizinprodukt-Studie eingeschlossen.

### Baseline-Untersuchungen

Vor der Intervention wurden folgende Untersuchungen durchgeführt bzw. Parameter bestimmt: Größe, Gewicht, Herzfrequenz, Praxisblutdruck, wobei der Durchschnittswert von drei wiederholten Messungen nach mindestens fünf Minuten Ruhe genommen wurde

(boso-medicus Vollautomat, Bosch+Sohn GmbH & Co., Jungingen, Deutschland), 24hBlutdruckmessung (Mobil-O-Graph NG, Struck Medizintechnik und SOMNOmedicus, Randersacker) aktuelle Medikation, Duplexsonographie der Nierenarterien mit Bestimmung der Widerstandindices (RI, PI), Computertomographie der Nieren für die exakte anatomische Darstellung der Gefäße.

Blut- und Urinproben wurden mittels Vacutainer® (Vacutainer®, BD, New Jersey, USA) entnommen und im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik der Universitätsklinik Düsseldorf untersucht. Bestimmt wurden im Blut: Natrium, Kalium, Hämoglobin, Kreatinin, eGFR nach CKD-EPI, Harnstoff, Cystatin C, eGFR aus Cystatin C, Glucose, HbA<sub>1c</sub>, Insulin, Cholesterin, HDL, LDL, NT-pro-BNP, Aldosteron, Renin, Metanephrin, Normetanephrin.

### Eingriffsprotokoll der renalen Denervation

Mindestens 24 Stunden vor dem Eingriff wurden die Patienten von einem Arzt des Instituts für diagnostisch und interventionelle Radiologie über den Eingriff und die Risiken aufgeklärt. Auf Komplikationen wie Nachblutungen, Hämatome, Gefäßverletzungen im Bereich der Aorta und der Aa. renales, Aneurysma spurium, arteriovenöse Fistel und Stenosierung der Nierenarterie wurde im Besonderen hingewiesen.

Durchgeführt wurde der Eingriff in einem üblich ausgestatteten Angiographieraum von einem Radiologen des Instituts für diagnostische und interventionelle Radiologie des Universitätsklinikum Düsseldorf. Neben der lokalen Anästhesie der Leiste wurde der Patient mit Midazolam und Remifentanyl i.v. analgosediert. Perinterventionell wurde eine systemische Antikoagulation mit 5000 I.E. unfractioniertem Heparin durchgeführt. Nach Anlage eines 6F-Guidingsystems in die A. femoralis communis wurde der Ablationskatheter (Symplicity Flex Katheter oder Spiral Katheter der Firma Medtronic/Ardian Inc., Minnesota, USA) über die A. iliaca externa bis zum Abgang der Nierenarterien aus der Aorta vorgeschoben. Unter Durchleuchtung wurde die A. renalis sondiert und mittels Kontrastmittel dargestellt, um die optimale Katheterposition zu bestimmen. Da der Symplicity Flex Katheter mit nur einer Radiofrequenzelektrode ausgestattet ist, wurde der Katheter nach jeder Ablation ca. 5mm spiralförmig zurückgezogen, um eine zirkuläre Ablation der Nierenarterie zu gewährleisten. Der neuere Symplicity Spiral Katheter besitzt vier spiralförmig angeordnete Radiofrequenzelektroden, so dass auf das Manöver verzichtet werden konnte. Nach korrekter Positionierung wurde die Elektrode(n) über einen Hochfrequenzstrom genau 60 Sekunden auf etwa 5565 Grad Celsius erhitzt. Dadurch sollten, die an dieser Stelle in der Gefäßwand laufenden Nervenfasern verödet werden. Eine Kühlung des umliegenden Gewebes wurde durch den Blutstrom in der A. renalis erreicht. Das Verfahren wurde nacheinander in beiden Nierenarterien durchgeführt. Pro Nierenarterie wurden 4-6 Punkte ablatiert. Anschließend wurde der Katheter und die Schleuse entfernt und die Punktionsstelle in der

Leiste mit einem Verschlusssystem und/oder einem Druckverband versorgt. Die Dauer der Prozedur betrug abhängig vom Kathetertyp 40-60 Minuten. Am Folgetag erfolgte eine klinische Kontrolle der Punktionsstelle sowie eine Duplexsonographie der Nierenarterien.

### Nachuntersuchung

Nach der renalen Denervation wurde nach 6 Monaten eine Nachuntersuchung durchgeführt. Bis auf die CT-Untersuchung wurden dabei die gleichen Untersuchungen durchgeführt wie bei der Baseline Untersuchung. Zusätzlich wurden besondere Ereignisse wie hypertensive Krisen und kardiovaskuläre Komplikationen erfasst.

### Statistische Analyse

Für die statistische Analyse und graphische Darstellung der erhobenen Daten wurde die Software Graph Prism Version 8 für Microsoft Windows der Firma Graph PAD (La Jolla, California, USA) benutzt. Bei normalverteilten Werten wurde der T-Test für verbundene bzw. unverbundene Stichproben angewandt, bei nicht normalverteilten Werten der Wilcoxon-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test. Der Unterschied zwischen zwei Werten wurde als signifikant betrachtet, wenn  $p < 0.05$ . Bei gerichteten Hypothesen wurde mit einem einseitigem Konfidenzniveau, ansonsten mit einem zweiseitigen Konfidenzniveau gerechnet.

## Inflammationsparameter

Bei allen Patienten wurde bei der Baseline- sowie bei der Nachuntersuchung nach 6 Monaten mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) folgende Inflammationsparameter gemessen: C-reaktives Protein (CRP), Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor-Alpha (TNF- $\alpha$ ). Als gesunde Kontrollen dienten Mitarbeiter der Klinik für Nephrologie des Universitätsklinikums Düsseldorf bei denen ebenfalls oben genannte Parameter einmalig bestimmt wurden. Das Ethikvotum der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf lag vor (Nr. 5365R).

## Quantikine® Human CRP/ TNF- $\alpha$ / IL-6 Immunoassays

Die Quantikine® Human CRP/ TNF-  $\alpha$ / IL-6 ELISA Kits der Firma R&D Systems Inc. (Mineapolis, USA) sind Festphasen-ELISA Immunoassay um CRP bzw. TNF- $\alpha$  bzw. IL-6 in Serum, Plasma und Zellkulturen nachzuweisen. Das Human CRP Quantine ELISA Kit ist ein 4,5h Assay, das NSo-exprimiertes rekombinantes quantifizierbares menschliches CRP enthält. Untersuchungen zeigen eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit natürlichem humanen CRP, so dass das Kit benutzt werden kann, um relative Messwerte für das natürliche humane CRP zu erhalten.

Das Human TNF- $\alpha$  Quantikine ELISA Kit ist ein 6,5h Assay. Es enthält rekombinanten humanen TNF- $\alpha$  aus E.coli und Antikörper gegen den rekombinanten Faktor. Testergebnisse mit natürlichem humanen TNF- $\alpha$  zeigen lineare Kurven, die parallel zu den Standardkurven des TNF-  $\alpha$  Quantikine Kits verlaufen. Somit kann das Kit verwendet werden, um relative Messwerte für das natürliche humane TNF- $\alpha$  zu erhalten.

Das Human IL-6 Quantikine ELISA Kit ist ein 5,5h Assay. Es enthält E.coli-exprimiertes rekombinantes humanes IL-6 und kann den rekombinanten Faktor quantifizieren.

Untersuchungen zeigen eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit natürlichem humanen IL-6, so dass das Kit benutzt werden kann, um relative Messwerte für das natürliche humane IL-6 zu erhalten.

### Testprinzip

Die beschriebenen Immunoassays beruhen auf dem Prinzip des Sandwich-Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Sandwich-ELISA). Ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, das zwei Antikörper benutzt, um das nachzuweisende Antigen mittels enzymatischer Farbreaktion zu messen. Dazu sind die Mikrotiterplatten (microwell plate) mit spezifischen Antikörpern gegen CRP bzw. TNF-  $\alpha$  oder IL-6 beschichtet. Werden nun

Standardlösungen und die Probenlösungen in die Vertiefungen (wells) pipettiert, binden die Antikörper das vorhandenes CRP/TNF- $\alpha$  /IL-6 in den Lösungen. Durch einen Waschvorgang werden alle ungebundenen Substanzen entfernt. Im nächsten Schritt wird ein Enzym-gebundener Antikörper gegen ein anderes ungebundenes Epitop von CRP/ TNF- $\alpha$ /IL-6 hinzugegeben. Die ungebundenen Substanzen müssen im Anschluss wieder ausgewaschen werden. Danach wird eine Substratlösung hinzugefügt, die mittels enzymatischer Reaktion Farbe im Verhältnis zur Menge von CRP/ TNF- $\alpha$ / IL-6 entwickelt. Zuletzt wird durch eine Stopp-Lösung der Farbumschlag beendet und anhand der Farbintensität die Konzentration von CRP/ TNF-  $\alpha$ /IL-6 am Mikroplatten-Lesegerät photometrisch bestimmt.

### Testdurchführung

Bei der Durchführung der Tests wurden die Schritte der beiliegenden Anleitung befolgt und ausschließlich die beiliegenden Wasch- und Konjugatlösungen, Substrate, Kalibrator- und Stopplösungen benutzt.

1. Venöse Blutentnahme mit EDTA-Monovette (BD Vacutainer®)
2. 1 ml EDTA-Blut für 15 Minuten bei 1000g zentrifugieren.
3. 100 $\mu$ l Verdünnungslösung und 100 $\mu$ l Plasma in eine Vertiefung der

Mikrotiterplatten pipettieren. Für 120 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren und währenddessen mit einem horizontalen Mikroplatten-Mischer bei  $500 \pm 50$  rpm mischen. Anschließend Verwerfen der Lösungen.

4. Für den Waschvorgang 400µl Waschlösung hinzufügen. Sorgfältiges Mischen. Anschließen Verwerfen der Lösungen. Waschvorgang sechs Mal wiederholen.
5. 200µl Konjugatlösung hinzufügen, bei Raumtemperatur für 120 Minuten inkubieren und währenddessen mit dem Mikroplatten-Mischer mischen.
6. Waschvorgang wie in 4. Wiederholen.
7. 50µl Substrat hinzufügen, bei Raumtemperatur für 60 Minuten inkubieren.
8. 50µl Kalibratorlösung hinzufügen, bei Raumtemperatur für 30 Minuten inkubieren.
9. 50µl Stopplösung hinzufügen.
10. Mittels Mikrotitirplattenlesegerät die optische Dichte der Lösungen messen, die Wellenlänge auf 490nm einstellen.

### Immunphänotypisierung der Lymphozyten mit Hilfe der Durchflusszytometrie

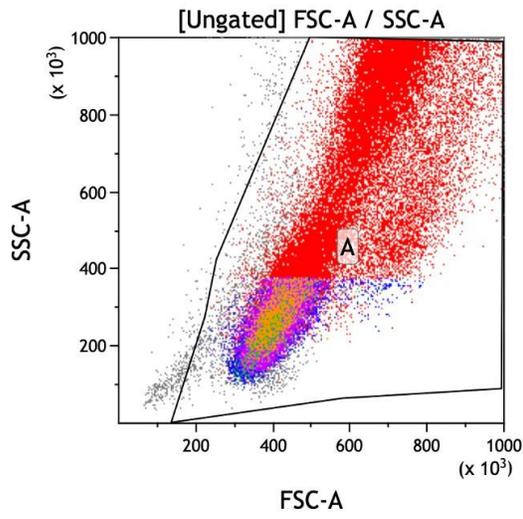
Bei allen Patienten wurde bei der Baseline- sowie bei der Nachuntersuchung nach 6 Monaten mittels Mehrfarben-Durchflusszytometrie eine T-Zell-Differenzierung durchgeführt. Bestimmt wurden neben der CD4<sup>+</sup>-Zell- und CD8<sup>+</sup>-Zellzahl die jeweiligen Anteile der naiven T-Zellen, der zentralen Gedächtniszellen (T<sub>CM</sub>), der Effektor-Gedächtniszellen (T<sub>EM</sub>) sowie der terminal differenzierten Effektor-Gedächtniszellen (T<sub>EMRA</sub>). Die Differenzierung wurde anhand der Oberflächenmerkmale CD45RA und CCR7

vorgenommen. Das Oberflächenmerkmal CD45RA, eine Isoform des CD45 Gens wird vor allem von naiven T-Zellen aber auch von terminal differenzierten Effektor-Gedächtniszellen exprimiert, während sich auf den anderen Gedächtniszellen die Splicevarianten CD45RO finden lässt. Der Chemokinrezeptor CCR7 wird ebenfalls von naiven T-Zellen wie von zentralen Gedächtniszellen exprimiert. Des Weiteren wurde die Effektorfunktion der CD8<sup>+</sup>T<sub>EMRA</sub> Zellen mittels Nachweis von IFN- $\gamma$  bzw. TNF- $\alpha$  gemessen. Das Ethikvotum der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf lag vor.

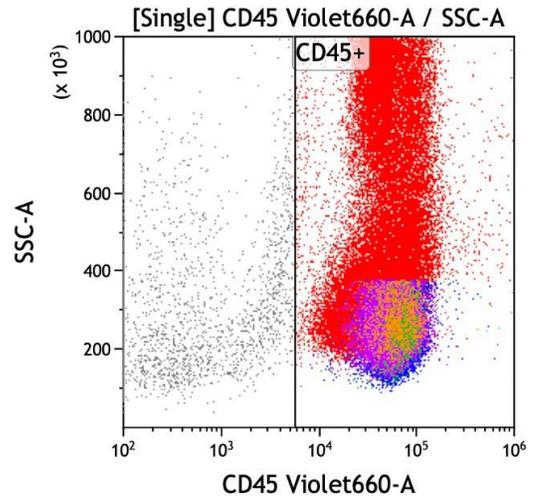
Tabelle 1 fasst die in dieser Arbeit verwendete T-Zell Differenzierung anhand oben genannter Oberflächenmerkmale zusammen. Abbildung 5 gibt anhand der jeweiligen Dot-Plots eine Übersicht über das verwendet Gating-Schema.

	CD45RA	CCR7
Naive T-Zellen	+	+
Zentrale Gedächtniszelle (T <sub>CM</sub> )	-	+
Effektor Gedächtniszelle (T <sub>EM</sub> )	-	-
Terminal differenzierte Effektor-Gedächtniszelle (T <sub>EMRA</sub> )	+	-

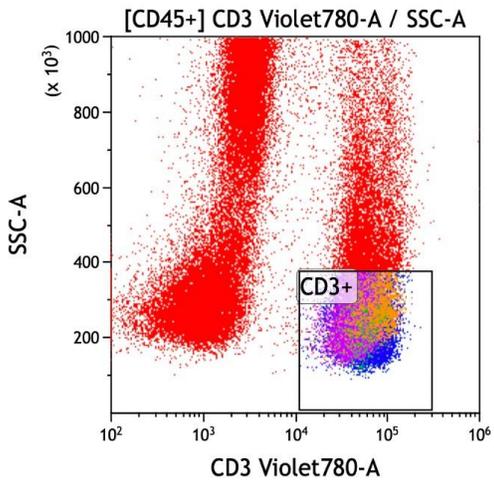
Tab. 1: T-Zell Differenzierung: Neben der Unterscheidung in CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>-Zellen Einteilung der T-Zellen in die jeweiligen Subtypen anhand der Kombination der Oberflächenmerkmalen CD45RA und CCR7.



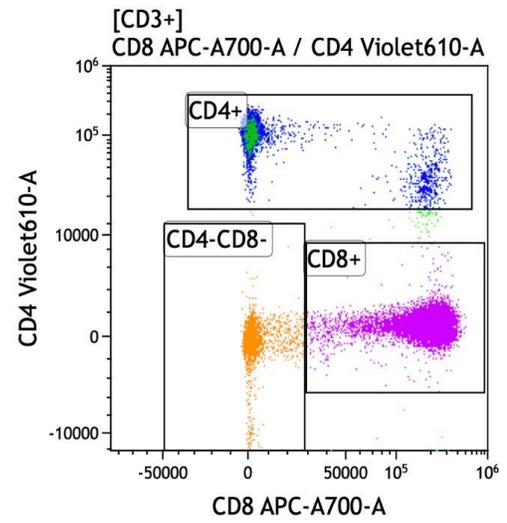
A



B



C



D

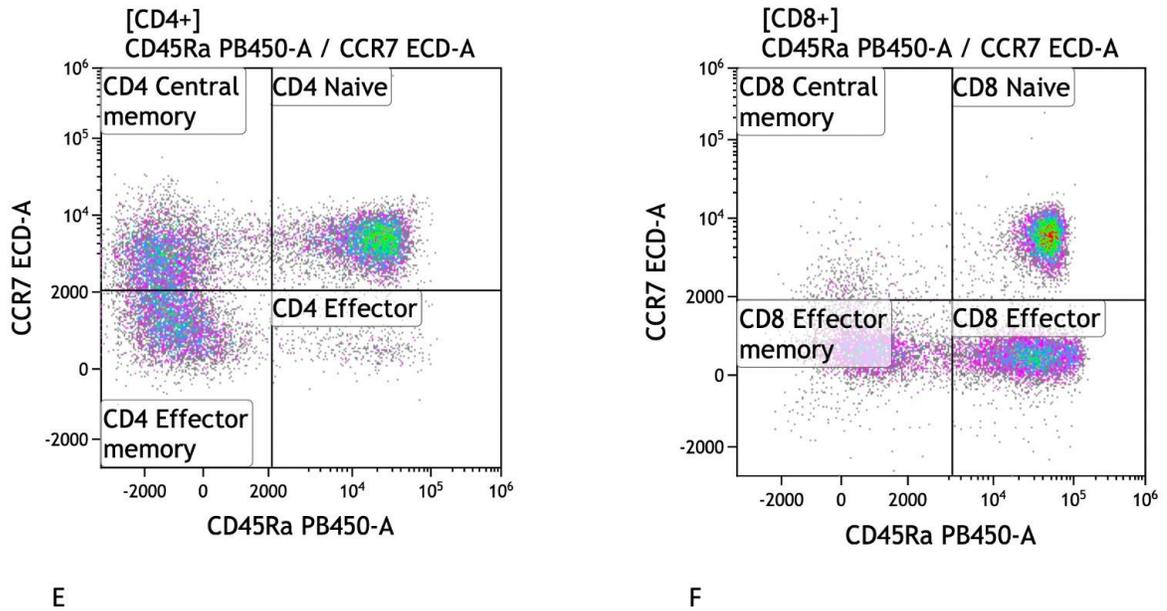


Abb. 5: Gating Schema der Durchflusszytometrie anhand der Dot-Plots A-F: A Separierung der einzelnen Zellpopulationen aus den mononukleären Zellen des peripheren Blutes mittels FSC (Forward Angle Light Scatter, Größe) und SSC (Side Angle Light Scatter, Granularität). B Identifikation der Leukozytenpopulation mittels Fluorchrommarkierten Ak gegen CD45 (LCA, Leukocyte common antigen). C Identifikation der T-Lymphozytenpopulation anhand der CD3 Positivität (CD3 = Teil des T-Zell Rezeptor-Komplexes). D Differenzierung der CD4<sup>+</sup> bzw. CD8<sup>+</sup> T-Zellen. E bzw. F Anhand der Oberflächenmerkmale CD45Ra und CCR7 können die jeweiligen T-Zellen in Subpopulationen eingeteilt werden. T<sub>CM</sub> = CD45Ra negativ, CCR7 positiv; naive T-Zelle = CD45Ra positiv, CCR7 positiv; T<sub>EM</sub> = CD45Ra negativ, CCR7 negativ; T<sub>EMRA</sub> = CD45Ra positiv, CCR7 negativ.

## Probenvorbereitung

Isolierung der mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC, peripheral blood mononuclear cells) und Einfrieren

1. Venöse Blutentnahme mit BD Vacutainer® CPT System, 2 Röhren
2. Zentrifugieren für 20min mit 2600rpm bei 20°C.
3. PBMC Schicht zwischen Plasma und Ficoll® aus beiden Röhren entnehmen und mit 13ml PBS-Puffer mischen
4. Zentrifugieren für 10min mit 1500rpm bei Raumtemperatur
5. Überstand absaugen, Pellet mit Pipette aufmischen
6. Pellet in 4ml Einfriermedium ( 10% DMSO, 40% HSA [5%] in PBS) aufnehmen
7. Überführen von je 1ml in ein Kryoröhrchen 1,2ml (Nalgene®)
8. Lagerung in Einfrierbox Mr. Frosty® (Nalgene®) bei -80°C

Auftauen und Oberflächenmarkierung der PBMCs mit Fluorochrom-markierten

Antikörpern

1. Kryoröhrchen im Wasserbad bei 37°C auftauen
2. Überführen der Probe in ein, mit PBS-0,5%HSA-Gemisch befülltes Polystyren-Röhrchen 5ml (VWR®)
3. Zentrifugieren für 5min bei 1100rpm bei Raumtemperatur 4. Überstände verwerfen
5. Pellets in 230µl PBS-0,5%HSA Gemisch resuspendieren

6. 2x 100µl für die Färbungen und 1x 50µl (ungefärbt) auf neue Polystyren-Röhrchen verteilen
7. 41,5µl Antikörpermix hinzugeben
8. Für 20min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren
9. 1ml PBS-0,5%HSA-Gemisch hinzugeben
10. Zentrifugieren für 10min mit 2000rpm bei Raumtemperatur
11. Überstände verwerfen
12. Pellets in 250µl PBS-0,5%HSA-Gemisch aufnehmen

Tabelle 2 stellt die Antikörper gegen die entsprechenden Oberflächenmoleküle mit den jeweiligen Fluorchrommarkierung (Konjugat) dar.

Antikörper gegen	Klon	Ig-Subklasse	Konjugat	Spezies	Hersteller	Katalognummer/Referenz
CD3	SP34-2	IgG1k	BV786	Maus	BD Horizon	563918
CD45	HI30	IgG1k	BV650	Maus	BD Horizon	563717

CD4	SK3	IgG1k	BV605	Maus	BD Horizon	565998
CD8	SK1	IgG1k	APC A700	Maus	BD Horizon	565192
CD45Ra	2H4	IgG1k	Pacific Blue	Maus	Beckman Coulter	A82946
CCR7	150503	IgG2a	PE- CF594	Maus	BD Horizon	562381
IFN- $\gamma$	XMG1.2	IgG1k	PE- Cyanine 7	Maus	Invitrogen	25-7311-41
TNF- $\alpha$	MP6-XT22	IgG1k	APC	Ratte	Miltenyi Biotec	130-123- 277

Tab. 2.: Auflistung der verwendeten Antikörper

### Messung im Mehrfarben-Durchflusszytometer

Nach Aufbereitung des Untersuchungsmaterials wurde die Proben mit Hilfe der Durchflusszytometrie (CytoFlex®, Beckman Coulter) analysiert und anhand unterschiedlicher Streueigenschaften und Fluorchrom-Markierungen unterschieden.

### Testprinzip

Die Durchflusszytometrie ist eine automatisiertes Analyseverfahren für Zellsuspensionen auf der Grundlage von Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften.

Im Durchflusszytometer werden die, mit fluoreszierender Antikörper markierten Zellen einzeln hintereinander von einem Laser angestrahlt. Anhand des entstehenden Streulichts und der unterschiedlichen Fluoreszenzeigenschaften können die Zelllinien unterschieden werden. Im Aufbau eines Durchflusszytometers unterscheidet man folgende Komponenten. Die Messzelle mit Mikrokanalküvette, das optische System aus Laser und Filtern sowie Detektoren, die das optische Signal verstärken und in ein elektronisches Signal zur Datenverarbeitung am Computer umwandeln.

Die Zellsuspension im Probenpuffer wird durch einen Hüllstrom fokussiert. Bei dieser laminaren Strömung werden die Zellen dabei auf bis zu 7m/sec beschleunigt. Der Hüllstrom sorgt dafür, dass die Zellen über den Kanal der Küvette aus Stahl einzeln hintereinander den Messbereichs des Lasers passieren. Mit Filtern wird das dabei entstehende Streulicht und Fluoreszenzsignal aufgetrennt mit Photomultipliern detektiert an den Computer weitergeleitet und graphisch dargestellt.

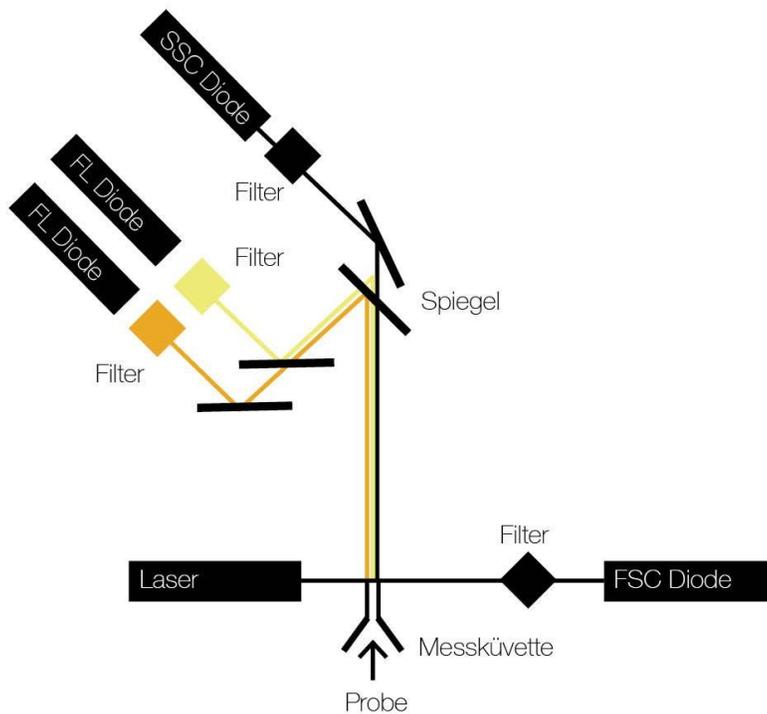


Abb. 5: Schematisch Darstellung eines Durchflusszytometers: Die Strahlen des Lasers treffen auf die Zellen der Probe und werden abgelenkt. Das Vorwärtsstreulicht ( Forward Angle Light Scatter, FSC) werden von der FSC Diode detektiert. Das Seitwärtsstreulicht (Sideward Light Scatter, SSC) von der SSC Diode. Die emittierten Fluorochrome werden über Spiegelsysteme auf die jeweiligen Lichtdetektoren geleitet (FL Diode).

Ein gebräuchlicher Laser ist zum Beispiel der Argon Laser, der Licht mit einer Wellenlänge von 588nm generiert. Bei dem entstehenden Streulicht unterscheidet man Vorwärtsstreulicht (Forward Angle Light Scatter, FSC) von Seitwärtsstreulicht (Side Angle Light Scatter, SSC). Das FSC entsteht durch Lichtbeugung an der Zelle und korreliert mit

der Zelloberfläche und lässt somit Rückschlüsse auf das Zellvolumen zu. Der Detektor fängt das FSC in einem Winkel von  $180^\circ$  von der Lichtquelle auf. Das SSC entsteht durch Lichtbrechung und Reflektion und wird in einem Winkel von  $90^\circ$  aufgefangen. Es gibt Rückschlüsse über die Granularität, Membranfaltung und Form der Zelle. Zur weiteren Unterscheidung werden zuvor spezifische Oberflächenmoleküle der jeweiligen Zellpopulationen mit Fluoreszenz-markierten Antikörpern markiert. Passieren die Zellen das Laserlicht wird die fluoreszierende Verbindung zum Leuchten angeregt. Durch Absorption von Lichtenergie in einem charakteristischen Wellenlängenbereich (Absorptionsspektrum) werden Elektronen auf ein höheres Energieniveau gehoben. Beim Zurückfallen zum Grundniveau emittiert das Elektron ein Photon was als Fluoreszenz bezeichnet wird. Das emittierte Licht ist dabei energieärmer und somit langwelliger als das Anregungslicht und bildet das Emissionsspektrum. Die Verschiebung der Wellenlängen zwischen Absorption und Emission wird mit dem Stoke'schen Gesetz beschrieben, das die mathematische Grundlage der Fluoreszenz bildet.

### Datenauswertung

Die Datenauswertung erfolgte mit der Software Kaluza<sup>®</sup> (Beckman Coulter). Die gemessenen Daten werden dabei in xy-Diagrammen, sogenannten Dot-Plots, in denen jeder Punkt einer Zelle entspricht dargestellt. Auf diese Weise können die ausgewählten Zellpopulationen genauer untersucht und einer Subpopulation zugeordnet werden.

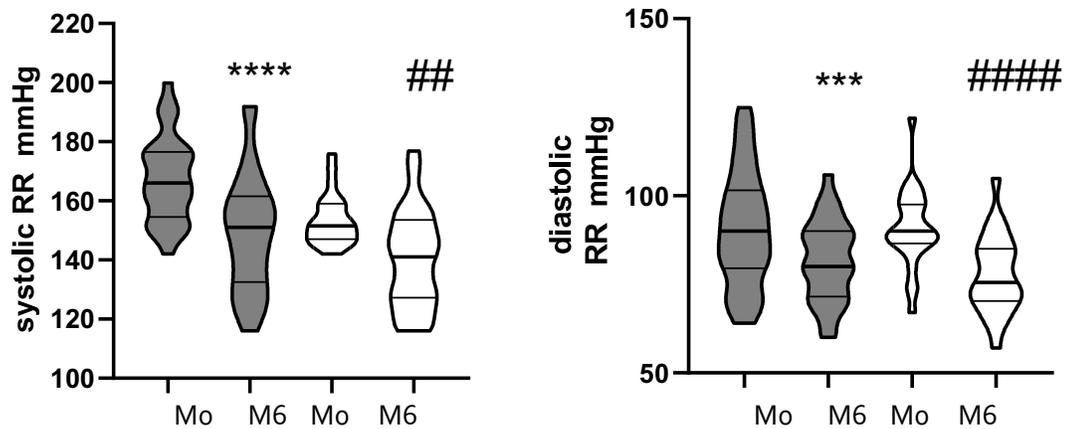
# Ergebnisse

## Stichprobenkollektiv

Aus den Patienten mit therapierefraktärer Hypertonie, die nach den Kriterien des GREAT Registers ausgewählt wurden und eine renale Denervation erhielten, wurden 28 Patienten für die vorliegende Arbeit ausgewählt. Die Datensätze der Stichprobe waren vollständig.

## Einfluss der renalen Denervation auf den Blutdruck

Im untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich eine signifikante Reduktion des Blutdrucks sechs Monate nach renale Denervation. Lag der Praxisblutdruck vor der Intervention bei 167/91mmHg ( $\pm 14$  bzw. 16mmHg) wurde in der Kontrolluntersuchung im Mittel ein Praxisblutdruck von 149/82mmHg ( $\pm 20$  bzw. 11mmHg) gemessen, was einer Reduktion von 18mmHg systolisch (11%) und 8mmHg diastolisch (9%) entsprach. Die signifikante Blutdrucksenkung bestätigte sich auch in der 24h-Messung. Vor renale Denervation wurde ein durchschnittlicher Wert von 153/91mmHg ( $\pm 9$  bzw. 11mmHg) gemessen. Nach 6 Monaten lag der Wert bei 140/78mmHg ( $\pm 17$ mmHg bzw. 11mmHg), was einer Reduktion von 13mmHg systolisch (8,5%) und 13mmHg diastolisch (14%).



- Praxisblutdruck
- 24h-Blutdruckmessung

Abb. 6: Signifikante Reduktion des Praxisblutdrucks 6 Monate nach renaler Denervation: Mo Monat 0, M6 nach 6 Monaten, Signifikanzniveau systolischer Blutdruck: \*\*\*\*  $p < 0,0001$  vs. Mo, ##  $p < 0,01$  vs. Mo; Signifikanzniveau diastolischer Blutdruck: \*\*\*  $p < 0,001$  vs. Mo, ####  $p < 0,00001$  vs. Mo

Als Responder wurden Patienten definiert, die einen Blutdruckabfall von mindestens 10mmHg zum Zeitpunkt der 6monatigen Nachuntersuchung im Vergleich zur Baselineuntersuchung aufwiesen. In der Stichprobe von 28 Patienten wurden 19 Responder identifiziert, woraus sich eine Erfolgsquote von 66% ergab.

## Blutdruckreduktion von mindestens 10mmHg nach 6 Monaten

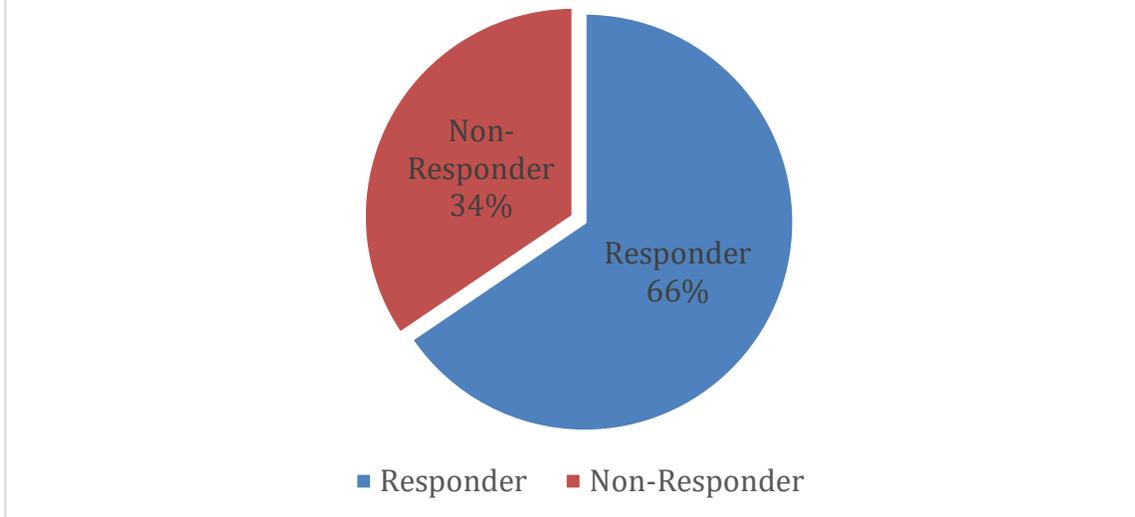
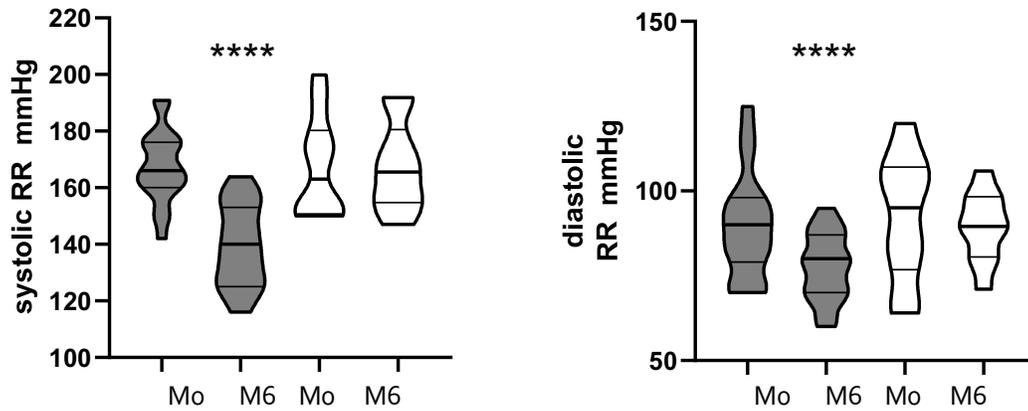


Abb. 7: Die renale Denervation zeigt eine Ansprechrate von 66% nach 6 Monaten.

Responder n=19, Non Responder n=9

In der Praxisblutdruckmessung vor Intervention lag der Blutdruck in der Respondergruppe bei 167/90mmHg ( $\pm 13$  bzw. 16mmHg). 6 Monate nach Intervention lag eine signifikante Blutdrucksenkung um 27mmHg (16%) systolisch bzw. 12mmHg (13%) diastolisch auf 140/78mmHg ( $\pm 14,5$  bzw. 10mmHg) vor. Ein vergleichbares Ergebnis zeigte sich in der 24h-Blutdruckmessung. Vor Intervention lag der Blutdruck der Respondergruppe bei 160/91mmHg ( $\pm 18$  bzw. 12mmHg), 6 Monate nach Intervention bei 134/85mmHg ( $\pm 16$  bzw. 11mmHg), was einer Reduktion von 26mmHg (16%) systolisch bzw. 6mmHg (7%) diastolisch entsprach.



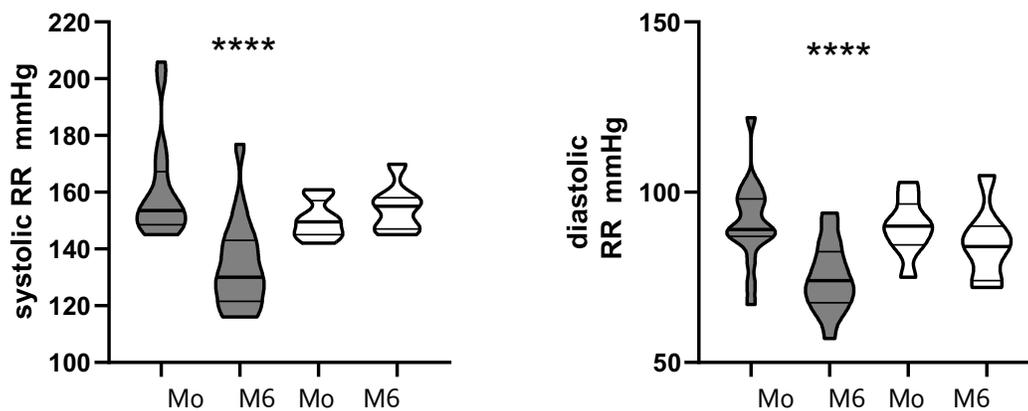
- Responder
- Non Responder

Abb. 8: Signifikante Reduktion der Praxisblutdrucks

6 Monate nach renaler Denervation in der Respondergruppe, Mo

Monat o, M6 nach 6 Monaten, Signifikanzniveau systolischer/diastolischer Blutdruck:

\*\*\*\* p < 0,0001 vs. Non Responder nach 6 Monaten



- Responder
- Non Responder

Abb. 9: Signifikante Reduktion des 24h-Blutdrucks 6 Monate nach

renaler Denervation in der Respondergruppe: Mo Monat 0, M6 nach 6 Monaten,  
 Signifikanzniveau systolischer/diastolischer Blutdruck: \*\*\*\*  $p < 0,0001$  vs. Non Responder  
 nach 6 Monaten

Tabelle 2 stellt die Baselinecharakteristika der beiden Gruppen dar.

	Responder (n=19)	Non-Responder (n=9)	p-Wert
Alter	59.4 ± 8.1	54.4 ± 15.1	p=0.5
Alter < 65	14 (73.7%)	7 (77.8%)	p=0.6
Sex m/f	11 / 8	5 / 4	p=0.9
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	31.9 ± 4.8	54.4 ± 15.1	p=0.7
Antihypertensiva	5.4 ± 1.2	5.6 ± 1.5	p=0.6
Diabetes (Typ 1 und 2)	5 (26.3%)	3 (33.3%)	p=0.7
OSAS	15 (78.9%)	3 (33.3%)	p=0.06
OfficeBP systolisch (mmHg)	167 ± 13	162 ± 16	p=0.6
OfficeBP diastolisch (mmHg)	91 ± 16	88 ± 22	p=0.7
24h BP systolisch (mmHg)	160 ± 18	150 ± 8	p=0.2
24h BP diastolisch (mmHg)	91 ± 12	88 ± 8.5	p=0.9
Creatinin (mg/dl)	0.9 ± 0.3	1.1 ± 0.7	p=0.9
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	79.3 ± 21.5	81.9 ± 29.5	p=0.6
Cystatin C (mg/l)	1.0 ± 0.3	1.2 ± 0.8	p=0.7

Harnstoff (mg/dl)	36.8 ± 9.9	46.5 ± 26.2	p=0.3
Mikroalbuminurie (mg/dl)	149.3 ± 282.0	123.7 ± 145.5	p=0.6
Natrium (mmol/l)	142.8 ± 1.9	142.6 ± 1.7	p=0.7
Kalium (mmol/l)	3.8 ± 0.4	3.8 ± 0.3	p=0.6
Hämoglobin (g/dl)	14.0 ± 0.8	13.7 ± 1.4	p=0.7
Glucose (mg/dl)	122.0 ± 17.9	119.3 ± 33.0	p=0.5
HbA1c (%)	6.1 ± 0.7	5.7 ± 0.5	p=0.1
Aldosteron (pg/ml)	89.8 ± 64.4	118.0 ± 28.0	p=0.1
Renin (pg/ml)	10.5 ± 11.8	247.6 ± 441.5	p=0.1
Metanephrin (ng/l)	46.1 ± 21.3	51.3 ± 18.4	p=0.3
Normetanephrin (ng/l)	62.9 ± 24.7	84.8 ± 35.6	p=0.2
Cholesterin (mg/dl)	203.5 ± 40.9	191.4 ± 28.3	p=0.5
HDL (mg/dl)	50.1 ± 13.9	45.5 ± 13.8	p=0.4
LDL (mg/dl)	133.5 ± 41.8	128.3 ± 25.3	p=0.6
NT-proBNP (pg/ml)	332.7 ± 759.3	268.9 ± 568.2	p=0.06

Tab. 2: Baselinecharakteristika der Denervationspatienten in den Gruppen Responder vs. Non-Responder. Alle Angaben in Mittelwert und Standardabweichung. BMI = Body-mass index. OSAS = Obstruktives-Schlafapnoe-Syndrom. OfficeBP = Praxisblutdruck. 24h BP = Langzeitblutdruck. eGFR = estimated glomeruläre Filtrationsrate.

Die beiden Gruppen waren hinsichtlich des Alters und der Geschlechterverteilung vergleichbar (Responder 59,4 ( $\pm$  8,1), Non-Responder 54,4 ( $\pm$ 15), p-Wert 0,5 bzw. Responder m/w 11/8, Non-Responder 5/4, p-Wert 0,9. Das Gewicht bzw. Der BMI unterschieden sich nicht signifikant (Responder 31,9kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  4,8 kg/m<sup>2</sup>), Non-Responder 54,4kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  15,1 kg/m<sup>2</sup>), p-Wert 0,7. Der Praxisblutdruck lag bei den Respondern im Mittel bei 167/91mmHg ( $\pm$  13/16 mmHg), bei den Non-Respondern bei 162/88mmHg ( $\pm$  16/22 mmHg), p-Wert 0,6 bzw. 0,7. Auch in der in der Langzeitblutdruckmessung waren die Werte vergleichbar (Responder 160/91mmHg ( $\pm$  18/12 mmHg), Non-Responder 150/88mmHg ( $\pm$  8/8,5 mmHg), p-Wert 0,2 bzw. 0,9). Hinsichtlich der Komorbiditäten Diabetes mellitus (Responder 5 (26,3%), Hba1c 6,1% ( $\pm$  0,7%), Non-Responder 3 (33,3%), Hba1c 5,7% ( $\pm$  0,5%), p-Wert 0,7 bzw. 0,1), Schlafapnoe-Syndrom (Responder 15 (78,9%), Non-Responder 3 (33,3%), p-Wert 0,06) und Nierenfunktion (Responder GFR-EPI 79,3ml/min ( $\pm$  21,5ml/min), Mikroalbuminurie 149,3mgd/dl ( $\pm$  282mgd/dl), Non-Responder 81,9ml/min ( $\pm$  29,5ml/min), Mikroalbuminurie 123,7mgd/dl ( $\pm$  145,5mgd/dl) , p-Wert 0,6 bzw. 0,6) ergaben sich keine signifikante Unterschiede in den beiden Gruppen. Vergleichbarkeit lag auch in den Konzentrationen von Aldosteron (Responder 89,9pg/ml ( $\pm$ 64,4 pg/ml ), Non Responder 118pg/ml ( $\pm$ 28 pg/ml ), p-Wert 0,1), Renin (Responder 10,5pg/ml ( $\pm$ 11,8 pg/ml ), Non-Responder 247,6pg/ml ( $\pm$ 441,5pg/ml ), p-Wert 0,1, in der Katecholaminkonzentration (Responder Metanephrin 46,1ng/l ( $\pm$ 21,3ng/l), Normetanephrin 62,9ng/l ( $\pm$ 24,7ng/l), Non-Responder Metanephrine 51,3ng/l ( $\pm$ 18,4 ng/l), Normetanephrin 84,8ng/l ( $\pm$  35,6 ng/l), p-Wert 0,3 bzw. 0,2), in den Parametern

des Fettstoffwechsels (Responder Cholesterin 203,5mg/dl ( $\pm$ 40,9 mg/dl), HDL 50,1mg/dl ( $\pm$ 13,9 mg/dl), LDL 133,5mg/dl ( $\pm$  41,8mg/dl), Non Responder Cholesterin 191,4mg/dl ( $\pm$ 28,3 mg/dl), HDL 45,5mg/dl ( $\pm$ 13,8 mg/dl), LDL 128,3mg/dl ( $\pm$ 25,3 mg/dl), p-Wert 0,5 bzw. 0,4 bzw. 0,6) und der NT-proBNP Konzentration (Responder 332,7pg/ml ( $\pm$ 759,3pg/ml), Non Responder 268,9pg/ml ( $\pm$ 568,2pg/ml), p-Wert 0,06 vor.

### Vergleich der Inflammationparameter der Kohorte mit einer Kontrollgruppe

Zunächst wurde die Kohorte der Patienten mit therapieresistenter Hypertonie (n=28) hinsichtlich ausgewählter Inflammationsparameter, die zur Baselineuntersuchung bestimmt wurden mit einer gesunden Kontrollgruppe ohne Hypertonie (n=17) verglichen. Bei der Patientengruppe lagen die CRP Werte mit 4937ng/ml ( $\pm$  976ng/ml) signifikant höher als in der Kontrollgruppe mit CRP Mittelwerten von 1790ng/ml ( $\pm$ 635 ng/ml), p-Wert <0,05. Signifikant höhere Konzentrationen bei den Hypertonikern zeigte sich auch bei IL6 mit Mittelwerten von 2,71pg/ml ( $\pm$ 0,27 pg/ml) im Vergleich zu 1,17pg/ml ( $\pm$ 0,25 pg/ml) in der Kontrolle, p-Wert <0,05. Auch bei der TNF-  $\alpha$  Konzentration zeigten die Hypertonie Patienten signifikant höhere Werte (2,54pg/ml ( $\pm$ 0,29pg/ml) im Vergleich zur normotensiven Kontrollgruppe (0,84pg/ml ( $\pm$ 0,05pg/ml), p-Wert <0,001. Abbildung 10 fasst die Ergebnisse zusammen.

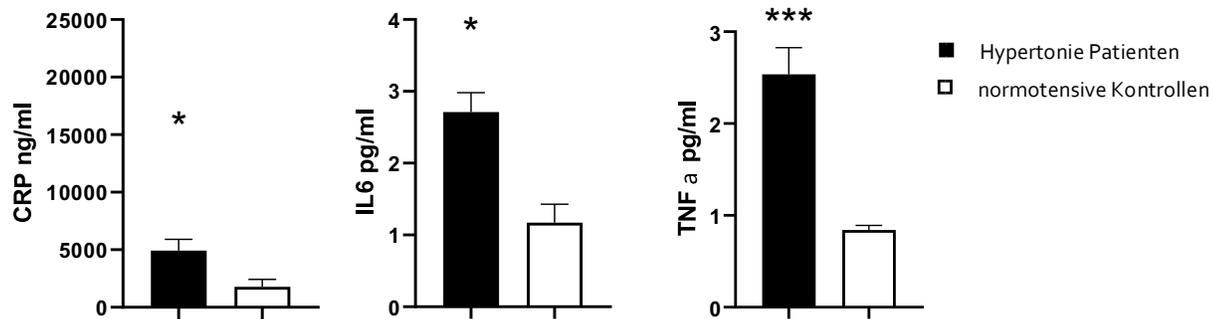


Abb.10: Patienten mit therapieresistenter Hypertonie zeigen signifikant höhere Konzentrationen der Inflamationsparameter CRP, IL-6 und TNF- $\alpha$  im Vergleich zur einer normotensiven Kontrollgruppe. Angaben in Mittelwert und Standardfehler, Signifikanzniveau CRP \*  $p < 0,05$ , IL-6 \*  $p < 0,05$ , TNF- $\alpha$  \*\*\*  $p < 0,001$ .

### Vergleich der Inflamationsparameter zwischen Responder und Non-Responder

Signifikante Unterschiede der Gruppen Responder und Non-Responder hinsichtlich der Inflamationsparameter zum Ausgangszeitpunkt lagen nicht vor.

In der Gruppe der Responder lag der Mittelwert für CRP bei 4660ng/ml ( $\pm$  966ng/ml) im Vergleich zur CRP Mittelwerten von 5522ng/ml ( $\pm$ 2347ng/ml) bei den Non-Respondern. Die IL-6 Konzentration von 2,64 pg/ml ( $\pm$ 0,34pg/ml) bei den Respondern unterschied sich nicht

signifikant von der IL-6 Konzentration von 2,84pg/ml ( $\pm 0,47$ pg/ml) bei den Non-Respondern. Auch ein Unterschied in der TNF- $\alpha$  Konzentration lag nicht vor (Responder 2,25pg/ml ( $\pm 0,24$ pg/ml), Non Responder 3,07pg/ml ( $\pm 0,7$ pg/ml)).

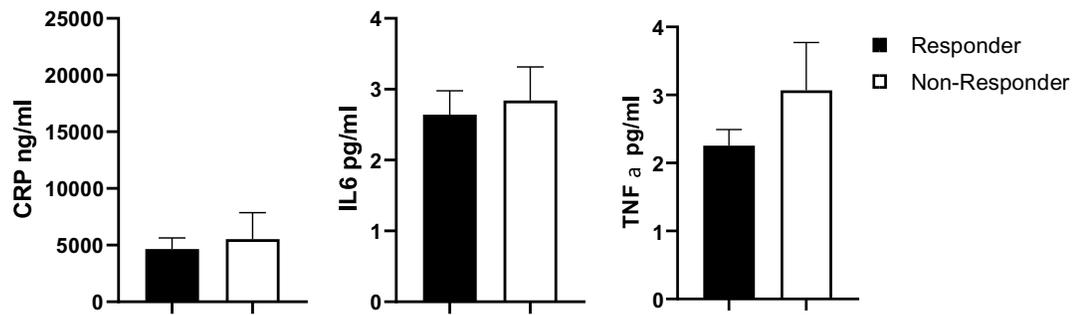


Abb. 11: Keine Unterschiede bei den Inflammationsparametern zwischen Responder und Non Responder vor renaler Denervation. Angaben in Mittelwert und Standardfehler.

Allerdings ließ sich im 6 monatigen Verlauf ein signifikanter Abfall sowohl der CRP- als auch der IL-6 Konzentration bei den Respondern zeigen ( $p < 0,05$ ). In der Gruppe der Responder fiel die CRP Konzentration nach 6 Monaten im Mittel um 42% auf 2723ng/ml ( $\pm 641$ ng/ml) und IL-6 Konzentration um 31% auf 1,82pg/ml ( $\pm 0,18$ pg/ml). Ein Rückgang der TNF- $\alpha$  Konzentration bei den Respondern nach 6 Monaten fand sich nicht. Signifikante Änderungen von CRP, IL-6 und TNF- $\alpha$  im Verlauf der Non Responder traten nicht auf.

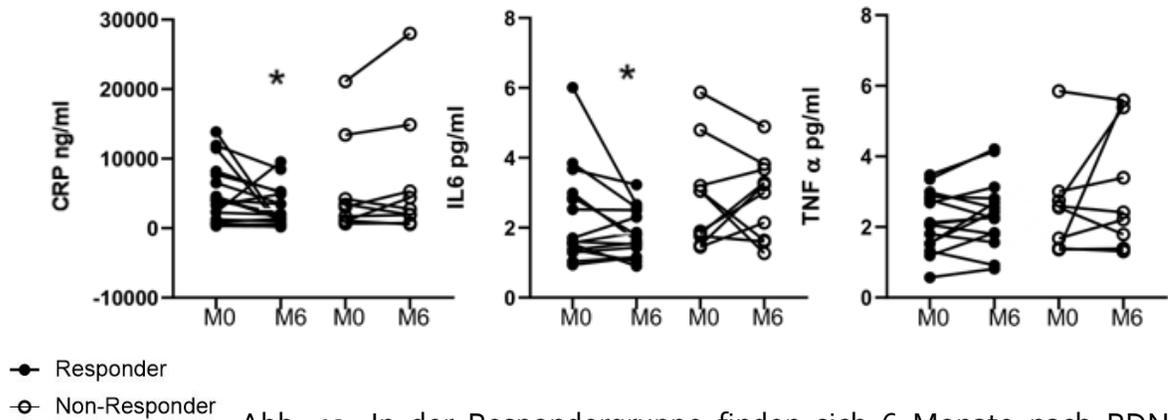


Abb. 12: In der Respondergruppe finden sich 6 Monate nach RDN signifikant niedrigere Konzentrationen von CRP und IL-6. Angaben in Mittelwert, Signifikanzniveau CRP \*  $p < 0,05$ , IL-6 \*  $p < 0,05$

Vergleicht man die Inflammationsparameter der Responder mit den Non-Respondern in der Kontrolle nach 6 Monaten, wiesen die Responder signifikant geringe IL-6 Werte auf (Responder  $1,82 \text{ pg/ml}$  ( $\pm 0,18 \text{ pg/ml}$ ), Non Responder  $2,84 \text{ pg/ml}$  ( $\pm 0,47 \text{ pg/ml}$ ),  $p < 0,05$ ). Signifikante Unterschiede in der CRP Konzentration (Responder  $2723 \text{ ng/ml}$  ( $\pm 641 \text{ ng/ml}$ ), Non Responder  $2515 \text{ ng/ml}$  ( $\pm 672 \text{ ng/ml}$ )) sowie in der TNF- $\alpha$  Konzentration (Responder  $2,37 \text{ pg/ml}$  ( $\pm 0,23 \text{ pg/ml}$ ), Non Responder  $3,23 \text{ pg/ml}$  ( $\pm 0,6 \text{ pg/ml}$ )) stellten sich nicht dar.

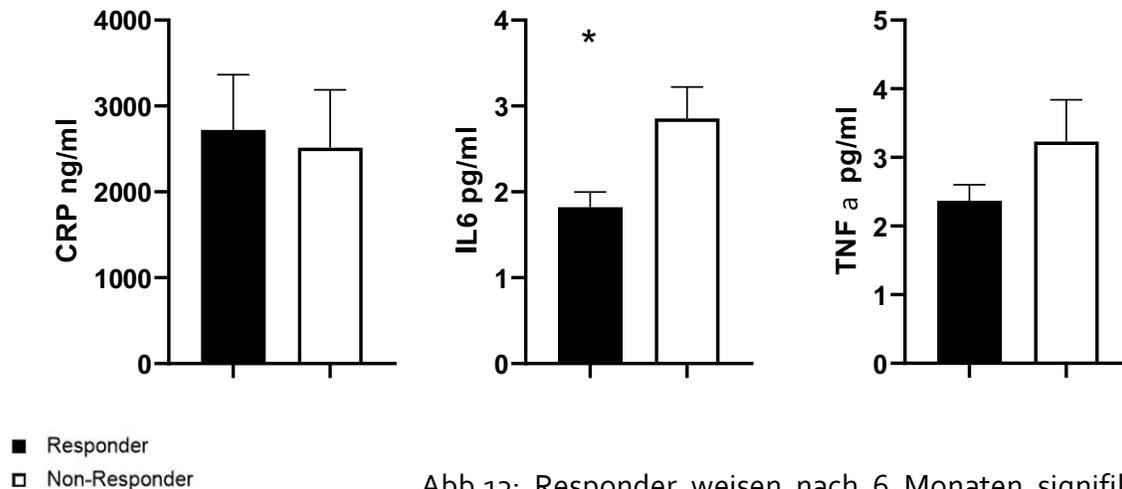


Abb.13: Responder weisen nach 6 Monaten signifikant niedrigere IL-6 Konzentrationen als Non-Responder auf. Angaben in Mittelwert und Standardfehler, Signifikanzniveau \*  $p < 0,05$

#### Effekte der RDN auf die T-Zell Funktion

#### Vergleich der CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-Zelldifferenzierung zwischen Responder und Non-Responder

In der zytometrischen Subdifferenzierung CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Zellen fanden sich zum Ausgangszeitpunkt in der Gruppe der Responder signifikant weniger naive T-Zellen ( $p < 0,05$ ) bei nicht unterschiedlicher Gesamt T<sub>4</sub>-Zahl. Responder hatten 16,25% ( $\pm 11,4\%$ ) naive CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Zellen, während Non-Responder im Mittel 26,7% ( $\pm 8,6\%$ ) naive CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Zellen aufwiesen. Interessanterweise zeigte sich bei den Respondern nach 6 Monaten eine signifikanter Anstieg der naiven CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Zellen auf 19,8% ( $\pm 14,2\%$ ) ( $p < 0,05$ ). Die Anzahl der naiven CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Zellen bei den Non-Respondern blieb unverändert. Unterschiede in den CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Subtypen,

zentrale Gedächtnis T-Zelle ( $T_{CM}$ ), Effektor-Gedächtnis T Zellen ( $T_{EM}$ ) und terminal differenzierte Effektor-Gedächtnis T Zellen ( $T_{EMRA}$ ) fanden sich weder zwischen den Gruppen noch im 6 monatigen Verlauf.

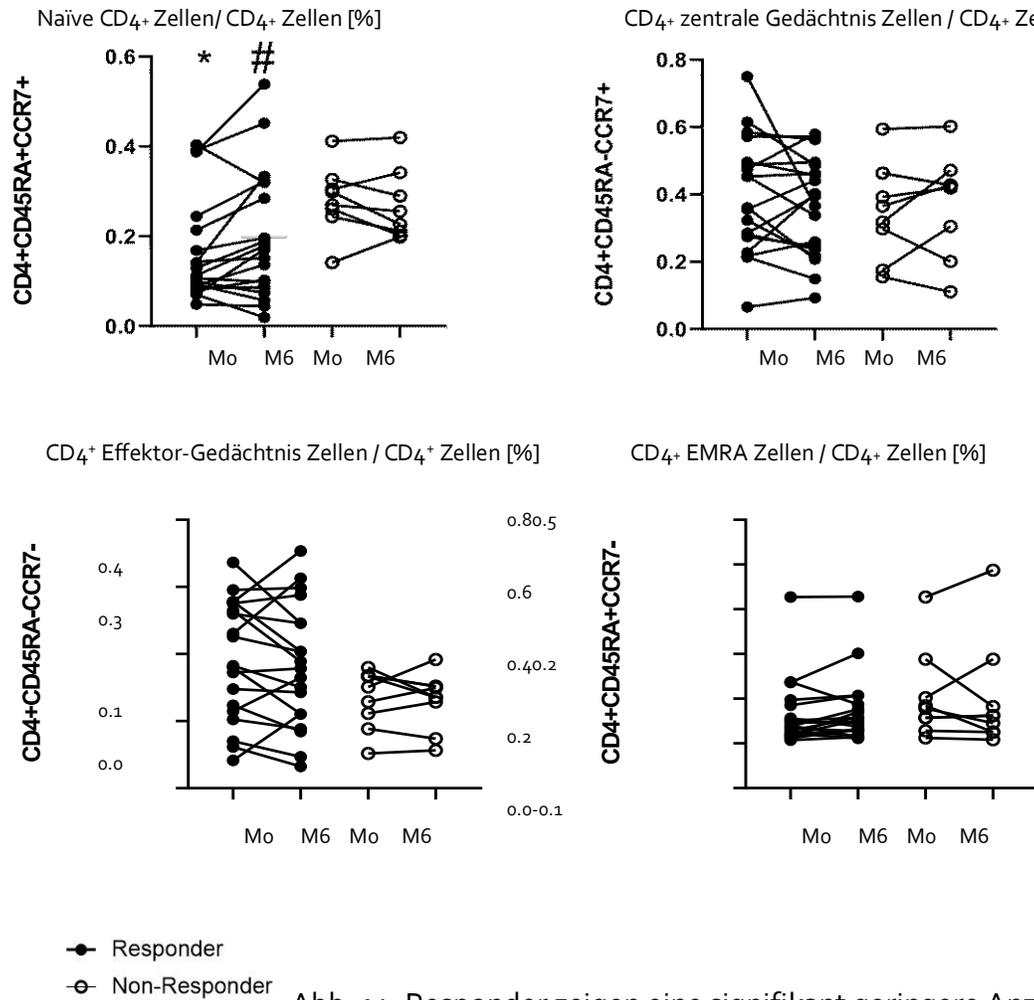
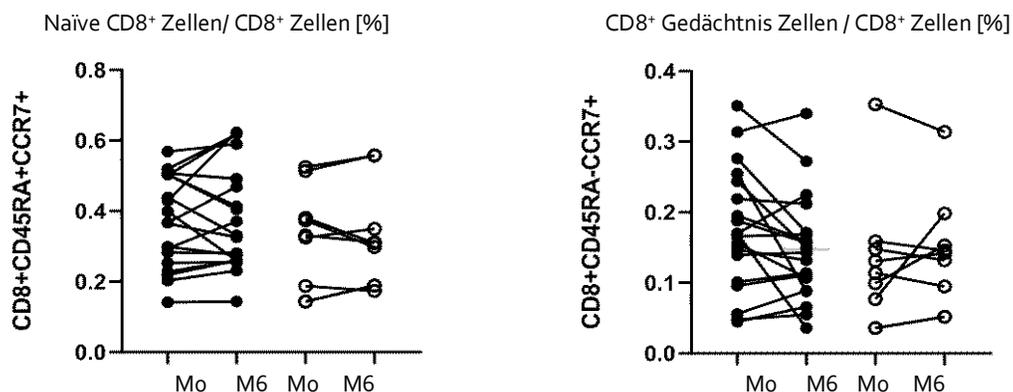
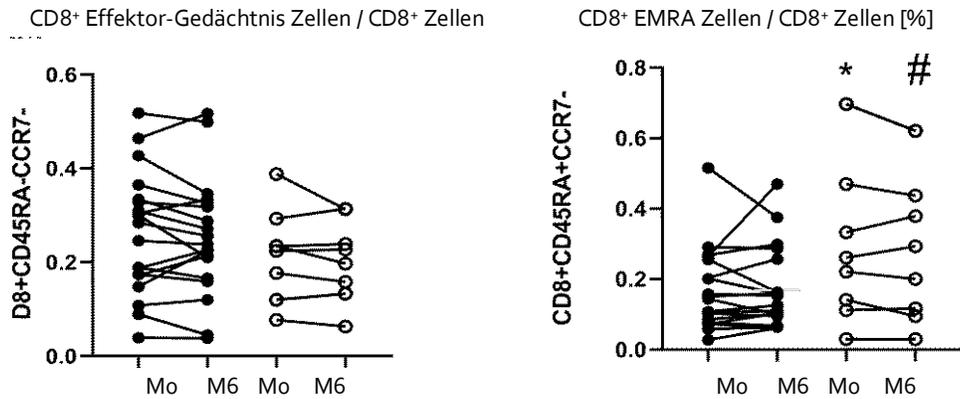


Abb. 14: Responder zeigen eine signifikant geringere Anzahl von naiven CD4+ Zellen als Non-Responder und einen signifikanten Anstieg nach 6 Monaten. Angaben in Mittelwert, Mo Monat 0, M6 nach 6 Monaten, Signifikanzniveau \*  $p < 0,05$  vs. Non Responder, #  $p < 0,05$  vs. Mo

## Vergleich der CD8<sup>+</sup>-Zelldifferenzierung zwischen Responder und Non-Responder

Auch bei den CD8<sup>+</sup> Zellen konnten signifikante Unterschiede in der Subtypisierung der T-Lymphozyten zwischen der Respondern und Non-Respondern gefunden werden. In der Gruppe der Non-Responder zeigten sich im Vergleich zu den Respondern sowohl zu zum Ausgangszeitpunkt als auch in der Kontrolle nach 6 Monaten eine erhöhte Anzahl der T<sub>EMRA</sub>-Zellen. Zum Ausgangszeitpunkt wiesen Non-Responder 33% ( $\pm 24,5\%$ ) T<sub>EMRA</sub>-Zellen im Vergleich zu 16,7% ( $\pm 12,6\%$ ) T<sub>EMRA</sub>-Zellen bei Respondern auf ( $p < 0,05$ ). Nach 6 Monaten ließen sich bei den Non-Respondern 31% ( $\pm 22\%$ ) T<sub>EMRA</sub>-Zellen im Vergleich zu 16,9% ( $\pm 11,6\%$ ) bei den Respondern nachweisen ( $p < 0,05$ ). Unterschiede in den CD8<sup>+</sup> Subtypen, naive T-Zelle, zentrale Gedächtnis T-Zelle (T<sub>CM</sub>) und Effektor-Gedächtnis T Zellen (T<sub>EM</sub>) fanden sich weder zwischen den Gruppen noch im 6 monatigen Verlauf.





- Responder
- Non-Responder

Abb. 15: Non-Responder zeigten erhöhte CD8<sup>+</sup> EMRA Zellen im

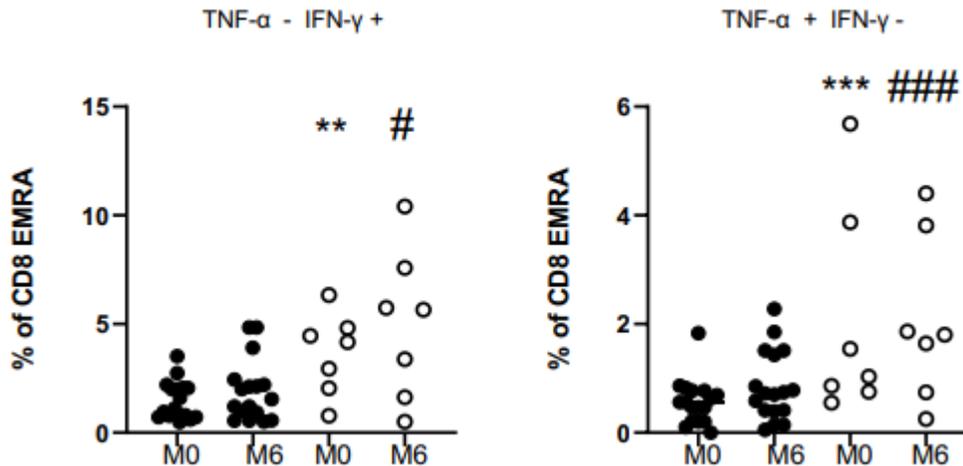
Vergleich zur Respondern. Angaben in Mittelwert, Mo Monat 0, M6 nach 6 Monaten,

Signifikanzniveau \*  $p < 0,05$  vs. Responder Mo, #  $p < 0,05$  vs. Responder M6.

## Vergleich der Zytokinausschüttung der CD8<sup>+</sup>-Zellen zwischen Responder und Non-Responder

Im Vergleich der TNF- $\alpha$  bzw. IFN- $\gamma$  Freisetzung aus CD8<sup>+</sup>-EMRA-Zellen ließen sich bei Non-Responder zum Ausgangszeitpunkt (TNF- $\alpha$   $36,5 \pm 18,6\%$ , IFN- $\gamma$   $20,4\% \pm 19,6\%$ ) hochsignifikant höhere TNF- $\alpha$  positive und signifikant höhere IFN- $\gamma$  positive EMRA-Zellen im Vergleich zu Respondern (TNF- $\alpha$   $14,9\% \pm 8,7\%$ , IFN- $\gamma$   $5,6\% \pm 4,2\%$ ) nachweisen. Dieser Unterschied bestätigte sich auch in der Kontrolle nach 6 Monaten. Non-Responder zeigten eine Positivität für TNF- $\alpha$  von  $49,8\% (\pm 34,4\%)$  Responder dagegen  $19,2\% \pm 8,7\%$ . Die

Positivität für IFN- $\gamma$  lag bei den Non-Respondern bei 20,7% ( $\pm 15,2\%$ ) und bei den Respondern bei 8,5% ( $\pm 6,4\%$ ).



- Responder
- Non Responder

Abb. 16: Non-Responder zeigen zum Ausgangszeitpunkt und nach 6

Monaten eine höhere Freisetzung von TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  aus CD8+ EMRA

cells im Vergleich zu Respondern. Angaben in Mittelwert, Mo Monat 0, M6 nach 6

Monaten, Signifikanzniveau \*\*  $p < 0,01$  vs. Responder Mo, #  $p < 0,05$  vs. Responder

M6\*\*\*  $p < 0,001$  vs Responder Mo, ###  $p < 0,001$  vs. Responder M6

## Diskussion

Die Hypertonie trägt wesentlich zur weltweit hohen kardiovaskulären Mortalität und Morbidität bei<sup>63</sup>. Auch wenn die Pathogenese multifaktoriell ist, scheint eine sympathische Überaktivität und im Speziellen eine renale sympathische Überaktivität eine wesentliche

Rolle bei der Hypertonie Entwicklung zu spielen <sup>10,14,17</sup>. Insbesondere für Patienten mit einer therapieresistenten Hypertonie, deren Blutdruck nach Ausschluss einer sekundären Ursache und ausgereizter medikamentöser Therapie unkontrolliert bleibt sind Therapiealternativen nötig. Das Prinzip der renalen Denervation beruht auf der Durchtrennung afferenter und efferenter Nervenfasern. Von Krum et al. wurde demonstriert, dass eine renale Denervation die renale sympathische Aktivität um  $\leq 47\%$  reduziert und dass die induzierte Reduktion sympathischer Aktivität mit einer signifikanten und anhaltenden Blutdrucksenkung assoziiert ist <sup>22,64</sup>. Der blutdrucksenkende Effekt der renalen Denervation in der hier untersuchten Kohorte steht im Einklang mit den meisten randomisierten und Sham-kontrollierten Studien, wie die 2017 veröffentlichte SPYRAL HTN-OFF MED und die 2018 veröffentlichte SPYRAL HTN-ON MED sowie RADIANCEHTN-SOLO <sup>28,31,32</sup>. Einzig die 2014 veröffentlichte Symplicity-3 HTN Studie konnte keinen blutdrucksenkenden Effekt der Intervention zeigen <sup>28</sup>. Aufgrund von prozeduraler und methodischer Mängel der Studie sind die Ergebnisse aber durchaus kritisch zu sehen. Als Prädiktoren einer Blutdrucksenkung stellten sich zum Beispiel die Anzahl der Denervationspunkte und der abladierten Quadranten an den Nierenarterien heraus, was die Vermutung zulässt, dass bei einer zu geringen Anzahl die Denervation nicht suffizient war, so wurden nur bei drei Viertel aller Patienten alle vier Quadranten abladiert und bei einigen Patienten wurde die empfohlenen Anzahl von 4-6 Ablationspunkte pro Nierenarterie nicht erreicht. Die technische Qualität muss auch aufgrund der geringen Erfahrung der meisten Operateure kritisch hinterfragt werden, so führte etwa ein Drittel

nur eine einzige Behandlung durch. Auch wurde in 39% der Fälle die antihypertensive Medikation während des Beobachtungszeitraums geändert. Erstaunlich war auch das Ergebnis der retrospektiven Analyse bei der eine ausgeprägte Blutdrucksenkung in der Scheinbehandlung von Patienten afroamerikanischer Herkunft gefunden wurde, für die es keine zufriedenstellende Erklärung gibt <sup>27</sup>. Im Vergleich hierzu wurde in der hier untersuchten Kohorte die Medikation während des Beobachtungszeitraums nicht geändert, außerdem wurde bei der Intervention darauf geachtet pro Nierenarterie zirkulär mindestens vier bis sechs Punkte zu abladieren.

#### Einfluss der renalen Denervation auf den Blutdruck

In dem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten ist die gefundene Blutdruckreduktion in der Praxismessung von -18/8mmHg der 28 Patienten mit den Vorgängerstudien vergleichbar. In der Symplicity HTN-1 Studie fand sich bei 45 Patienten eine Blutdruckreduktion von -14/10mmHg im gleichen Beobachtungszeitraum. Verglichen mit den Ergebnissen der Symplicity HTN-2 Studie bei der sich bei 52 Patienten ebenfalls im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten eine Reduktion von -32/12mmHg zeigte fällt die Reduktion geringer aus. Die als überschätzt geltende Reduktion des Praxisblutdrucks in der Symplicity HTN-2 Studie könnte unter anderen an dem höheren Ausgangsblutdruck liegen, der als Prädiktor für eine stärkere Blutdrucksenkung identifiziert wurde <sup>25, 28</sup>. Der Ausgangsblutdruck im untersuchten Kollektiv lag bei 167/90mmHg, während er bei der Symplicity HTN-2 Studie

bei 178/96mmHg lag. Die Blutdrucksenkung im untersuchten Kollektiv ist jedoch größer als in den Gruppen der HTN-3 Studie von -14/6mmHg nach 6 Monaten. Die beobachtete Blutdrucksenkung in der ambulanten 24h-Messung von -26/6mmHg fällt im Vergleich zur publizierten Studienlage höher aus. In der vergleichbaren SPYRAL HTNON MED zeigte sich nach 6 Monaten eine Reduktion von -7/4,3mmHg<sup>31</sup>. In der HTN-3 Studie lag die Reduktion bei -8/5mmHg. Die Responderrate, also der Anteil der Patienten, die nach 6 Monaten eine Blutdrucksenkung von  $\geq 10$ mmHg aufweisen lag bei 66%. Dies deckt sich wieder mit den Ergebnissen der Vorgängerstudien. Beispielsweise zeigte sich in der HTN-3 Studie ein Responderanteil von 68%. Warum ca. 35% der Patienten nicht bzw. nur unzureichend auf eine renale Denervation ansprechen bleibt weiterhin unklar.

Für den Erfolg der Blutdrucksenkung scheint die geeignete Patientenauswahl von großer Bedeutung zu sein. Die Auswahl der Patienten für die vorliegende Arbeit wurde nach den aktuellen Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, der Gesellschaft für Hypertonie und Prävention und der Gesellschaft für Nephrologie sowie der Deutsche Hochdruckliga e.V. getroffen<sup>65</sup>. Neben dem Ausschluss sekundärer Ursachen wurde eine stabile Medikation mit mindestens drei Antihypertensiva, davon mindestens ein Diuretikum, über 4 Wochen für den Einschluss gefordert.

Schließlich ist ein Einflussfaktor, der die Responderrate beeinflusst, die Medikamentenadhärenz, die sich bedingt durch eine Studienteilnahme möglicherweise erhöht<sup>66</sup>. In der DENERHTN Studie wurde der zusätzliche Effekt einer renalen Denervation zu einer standardisierten Medikation bei Patienten mit resistenter Hypertonie untersucht.

Während in der Denervationsgruppe die Reduktion des systolischen Tagesdurchschnitts in der 24h-Messung nach 6 Monaten -15,8mmHg betrug, lag er in der Gruppe, die ausschließlich die antihypertensive Medikation erhielt bei -9,9mmHg <sup>67</sup>.

Auch die sog. Weißkittelhypertonie kann die Responderrate verfälschen, da der Blutdruck in der Praxismessung überschätzt wird <sup>68</sup>. Auch wenn die Unterschiede zwischen Praxisblutdruck und ambulanter Langzeitmessung in der hier untersuchten Kohorte eher gering ausfallen, wird mittlerweile die ambulante 24h-Messung für den Einschluss, primären Endpunkt und Ausschluss einer Weißkittelhypertonie empfohlen <sup>69</sup>. Ferner gibt es Hinweise, dass der Effekt der renalen Denervation geringer bei Patienten mit isolierter systolischer Hypertonie ist, was wahrscheinlich der erhöhten Gefäßsteifigkeit als wesentlicher pathogenetischer Faktor der Hypertonie in dieser Patientengruppe geschuldet ist <sup>70</sup>. In der Düsseldorfer Kohorte konnte dies nicht untersucht werden, da die Anzahl der Patienten mit isolierter systolischer Hypertonie zu gering ausfiel.

Neben einer gründlichen und strengen Patientenselektion ist der Erfolg einer renalen Denervation von der technischen Durchführung abhängig. So ist es denkbar, dass bei manchen Non-Respondern einfach keine suffiziente Ablation der sympathischen Nerven stattgefunden hat. Prozedurale Mängel sind in der hier untersuchten Kohorte allerdings weniger wahrscheinlich, da für die Denervationen lediglich zwei erfahrene Interventionalisten verantwortlich waren, außerdem wurde auf eine zirkuläre Ablation mit mindestens vier Ablationspunkten pro Nierenarterie geachtet. Nichtsdestotrotz wäre für

zukünftige Studien neben standardisierten Ablationsverfahren eine zuverlässige Methode den technischen Erfolg der Denervation in vivo messen zu können wünschenswert.

Im Folgenden sollen weitere Prädiktoren bzw. Einflüsse einer renalen Denervation diskutiert werden auch um ggf. Responder bereits vor der Intervention erkennen zu können und die Ansprechrate von 66% zu erhöhen.

### Einfluss der renalen Denervation auf inflammatorische Prozesse der Hypertonie

Dass das Immunsystem und chronische Inflammation den Blutdruck ungünstig beeinflussen, wurde schon seit langem vermutet. Die derzeitigen Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass die Gefäßveränderungen und Endorganschäden bei Bluthochdruck durch eine unterschwellige Inflammation mitbedingt sind. Ebenso ist eine endotheliale Dysfunktion mit einer sympathischen Überaktivität assoziiert<sup>71</sup>. Wie oben dargelegt ist der Sympathikus und im Speziellen die Überaktivität der renalen efferenten sympathischen Aktivität, moduliert durch afferente Signale sowohl direkt über adrenerge Rezeptoren als auch indirekt über immunologische Prozesse wesentlich an der Hypertonie beteiligt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit decken sich mit den bisherigen Forschungsergebnissen.

Die Hypertonie-Patienten hatten signifikant höhere Konzentrationen der Inflammationsparameter CRP (4937ng/ml vs. 1790ng/ml), IL-6 (2,71pg/ml vs. 1,17pg/ml)

und TNF-  $\alpha$  (2,54pg/ml vs. 0,84pg/ml) als die gesunden normotensiven Kontrollen. Dass die arterielle Hypertonie mit erhöhten Entzündungsparamter wie CRP einhergeht ist bekannt <sup>72</sup>. Furumoto et al. fanden neben einer Assoziation der Inflammationsmarker IL-6 und TNF-alpha und Hypertonie auch einer Assoziation zur endothelialen Dysfunktion <sup>73</sup>. In einer großen Langzeitstudie von Ridker et al. ergaben sich Hinweise, dass die CRP-Konzentration ein bessere Vorhersagekraft kardiovaskulärer Ereignisse als die LDL-Konzentration besitzt <sup>74</sup>. Im untersuchten Kollektiv konnte gezeigt werden, dass die erfolgreiche renale Denervation in der Respondergruppe in einem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten zu einer signifikanten Reduktion der Inflammationsparameter CRP und IL-6 führt. In der Respondergruppe fand sich ein Abfall der CRP Konzentration um 42% auf 2723ng/ml ( $\pm$ 2794ng/ml) und eine Reduktion von IL-6 um 31% auf 1,82pg/ml ( $\pm$ 0,69pg/ml), was im Vergleich zu den Non-Respondern signifikant niedrigeren IL-6 Spiegel entspricht (Responder 1,82pg/ml ( $\pm$ 0,69pg/ml), Non-Responder 2,84pg/ml ( $\pm$ 1,49pg/ml),  $p < 0,05$ ). Ähnliche Ergebnisse konnten in einer Arbeit von Dörr et al. gefunden werden, in der sich ebenfalls eine signifikante Reduktion von CRP und IL-6 sechs Monate nach renaler Denervation nachweisen ließ <sup>75</sup>. Ein Rückgang der TNF- $\alpha$  Konzentration in der Respondergruppe konnte nicht gefunden werden. Im Vergleich hierzu konnte die Arbeitsgruppe von Zaldivia et al. nicht nur ein Rückgang der TNF- $\alpha$  Konzentration 3 und 6 Monate nach Denervation finden, sondern auch eine Reduktion weitere inflammatorische Marker wie IL-1 $\beta$  und IL-12 <sup>62</sup>. Im Gegensatz hierzu zeigten die Ergebnis von Eikelis et al. kein Rückgang der CRP, IL-6 und TNF-  $\alpha$  Konzentrationen nach renaler Denervation von 69

Patienten in einem Beobachtungszeitraum von 3 Monaten <sup>76</sup>. Ein möglicher Erklärungsansatz für den fehlenden Rückgang, könnten die deutlich geringeren Baseline-Konzentrationen von CRP, TNF- $\alpha$  und IL-6 der Patienten im Vergleich zu der hier untersuchten Kohorte sein. Die Ergebnisse lassen zwei Vermutungen zu. Ein möglicher Vorteil der renalen Denervation mit konsekutiver verminderter sympathischer Aktivität könnte in der Reduktion inflammatorischer Prozesse, die mit endothelialer Dysfunktion assoziiert sind liegen. Andererseits könnte die Blutdrucksenkung direkt zu einer geringeren endothelialen Dysfunktion und geringeren Inflammation führen.

Ein Einfluss der renalen Denervation konnte nicht nur, mit kardiovaskulärem Risiko assoziierten inflammatorischen Markern gefunden werden. In der Arbeit von Zaldivia et al. ergaben sich zudem Hinweise darauf, dass eine Hemmung der sympathischen Aktivität über einer renale Denervation mit einer reduzierten Monozyten Aktivierung assoziiert ist <sup>62</sup>. Wie bereits oben erwähnt konnte Xiao et al. in einer tierexperimentellen Arbeit zeigen, dass eine renale Denervation mit verringerten Infiltration von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-Zellen in den Nieren assoziiert war und auch die hypertensiv bedingten Effekte auf dendritischen Zellen verhinderte <sup>57</sup>.

Unter diesem Gesichtspunkt sollen im Folgenden die Ergebnisse der T-Zellsubtypisierung vor und nach renalen Denervation diskutiert werden.

## Einfluss der renalen Denervation auf die T-Zell Subtypisierung

In der Subtypisierung der CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-Zellen fanden sich signifikante Unterschiede in den beiden Gruppen. Responder hatten vor renalen Denervation signifikant weniger naive Zellen CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-Zellen als Non-Responder (16,25%, ±11,4% vs. 26,7%, ±8,6%) und interessanterweise zeigten die Respondergruppe einen Anstieg der naiven CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-Zellen nach 6 Monaten. Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese vom Einfluss des sympathischen Nervensystems auf das Immunsystem in der Pathogenese der Hypertonie und sind vereinbar mit experimentellen Arbeiten von Ramer-Quinn et al. als auch von Swanson et al. in denen sich Hinweise fanden, dass naive CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-Zellen unter Noradrenalin Einfluss in ihrer Entwicklung und Zytokin-Produktion gehemmt werden<sup>77,78</sup>. Zudem führte eine Noradrenalin Exposition zu einer Differenzierung von T<sub>H1</sub>-Zellen<sup>77</sup>. Ein Anstieg der Konzentration naiver CD<sub>4</sub><sup>+</sup>-Zellen nach 6 Monaten wie sie in der Respondergruppe zu finden war, könnte Ausdruck einer geringeren sympathischen Aktivität nach renaler Denervation sein und somit indirekt ein Hinweis für eine technisch erfolgreiche Denervation sein. Auch die Ergebnisse der T-Zelldifferenzierung CD8<sup>+</sup>-Zellen weisen auf die Interaktion zwischen dem sympathischen Nervensystem und dem adaptiven Immunsystem bei der Hypertonie hin. In der Gruppe der Non-Responder konnte eine erhöhte Anzahl von T<sub>EMRA</sub>-Zellen gefunden werden. Sowohl zum Ausgangszeitpunkt (33% ±24,5% vs. 16,7% ±12,6%) als auch im Beobachtungszeitraum von 6 Monaten (31% ±22% vs. 16,9% ±11,6). Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der Hypothese, dass eine

chronische sympathische Aktivität zur einer Stimulation reifer T-Lymphozyten führt, die für die Vermittlung hypertensiver Effekte des Immunsystems verantwortlich gemacht werden <sup>79</sup>. Diese Beobachtung untermauernd konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die CD8<sup>+</sup>-T<sub>EMRA</sub> Zellen der Non-Responder signifikant mehr IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  generieren. Man könnte vermuten, dass in dieser Gruppe immunologische Prozesse mit Beteiligung terminal differenzierter T-Gedächtniszellen mit Effektorfunktion einen größeren pathogenetischen Beitrag in der Aufrechterhaltung hypertensiver Zustände spielen und sich durch Reduktion sympathischer renaler Aktivität nicht, oder nicht mehr wesentlich beeinflussen lassen. Limitation der vorliegenden Arbeit ist die geringe Patientenzahl. Auch der Beobachtungszeitraum von 6 Monaten könnte zu kurz sein, um Effekte in diesen Zellpopulationen zu zeigen, deren Halbwertszeiten bis zu 8-15 Jahren betragen können <sup>80</sup>. Weitere, insbesondere auch tierexperimentellen Arbeiten sind nötig, um die Subtypisierung der T-Zellen und ihre Rolle bei der Hypertonie besser zu verstehen. Weitere größere Studien könnten zeigen, ob die hier gefunden Unterschiede in der T-Zelldifferenzierung bei Selektion von Patienten für einer renale Denervation hilfreich sind.

## Schlussfolgerung

Sympathische Überaktivität ist ein wichtiger Faktor in der Pathogenese der

therapieresistenten Hypertonie. Die renale Denervation stellt eine effektive Möglichkeit der Blutdrucksenkung dar. Entscheidend für den Erfolg der Methode ist die genaue Patientenselektion, insbesondere um die Ansprechrate von ca. 66% weiter zu erhöhen.

Die Ergebnisse geben Hinweise darauf, dass die Beeinflussung der sympathischen Überaktivität als therapeutisches Prinzip bei der Hypertonie das Immunsystem auf verschiedenen Ebenen beeinflusst. Eine mögliche Auswirkung könnte in der Reduktion inflammatorischer Prozesse liegen, die mit endothelialer Dysfunktion assoziiert sind und somit einen zusätzlichen positiven Effekt auf das Herz-Kreislaufsystem darstellt. Die Ergebnisse unterstützen die Vermutung, dass das Immunsystem ein Vermittler für den Sympathikus in der Hypertonie Entwicklung sein könnte. Es konnte gezeigt werden, dass die renale Denervation mit Veränderungen im Muster der T-Zellsubtypisierung einhergeht. Möglicherweise könnten T-Zellmuster dazu gebraucht werden, um Responder besser identifizieren zu können. Die Rolle der T-Zellsubtypen bei der Hypertonie, und ob die Veränderungen des T-Zellmusters durch die reduzierte Sympathikus Aktivität selbst oder durch die Blutdrucksenkung bedingt ist unklar. Weitere Studien, auch im Tiermodell sind notwendig, um die Rolle der T-Zellsubtypisierung bei der Hypertonie besser zu verstehen.

## Literaturverzeichnis

1. Lawes CM, Vander Hoorn S, Rodgers A. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet*. May 3 2008;371(9623):1513-8.
2. Williams B, Mancia G, Spiering W, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. Oct 2018;36(10):1953-2041.
3. Neuhauser HK, Adler C, Rosario AS, Diederichs C, Ellert U. Hypertension prevalence, awareness, treatment and control in Germany 1998 and 2008-11. *J Hum Hypertens*. Apr 2015;29(4):247-53.
4. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. Jul 2013;34(28):2159-219.
5. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. Apr 17 1997;336(16):1117-24.
6. Carretero OA, Oparil S. Essential hypertension. Part I: definition and etiology. *Circulation*. Jan 25 2000;101(3):329-35.
7. Braam B, Taler SJ, Rahman M, et al. Recognition and Management of Resistant Hypertension. *Clin J Am Soc Nephrol*. Mar 7 2017;12(3):524-535.
8. Daugherty SL, Powers JD, Magid DJ, et al. Incidence and prognosis of resistant hypertension in hypertensive patients. *Circulation*. Apr 3 2012;125(13):1635-42.
9. Thomas G, Xie D, Chen HY, et al. Prevalence and Prognostic Significance of Apparent Treatment Resistant Hypertension in Chronic Kidney Disease: Report From the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study. *Hypertension*. Feb 2016;67(2):387-96.
10. Smith PA, Graham LN, Mackintosh AF, Stoker JB, Mary DA. Relationship between central sympathetic activity and stages of human hypertension. *Am J Hypertens*. Mar 2004;17(3):217-22.
11. Mancia G, Grassi G. The autonomic nervous system and hypertension. *Circ Res*. May 23 2014;114(11):1804-14.
12. Siddiqui M, Calhoun DA. Refractory versus resistant hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. Jan 2017;26(1):14-19.
13. Mancia G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle G. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension*. Oct 1999;34(4 Pt 2):724-8.
14. Grassi G. Assessment of sympathetic cardiovascular drive in human hypertension: achievements and perspectives. *Hypertension*. Oct 2009;54(4):690-7.
15. DiBona GF, Kopp UC. Neural control of renal function. *Physiol Rev*. Jan 1997;77(1):751-97.
16. Nishi EE, Bergamaschi CT, Campos RR. The crosstalk between the kidney and the central nervous system: the role of renal nerves in blood pressure regulation. *Exp Physiol*. Apr 20 2015;100(5):479-84.
17. DiBona GF, Esler M. Translational medicine: the antihypertensive effect of renal denervation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. Feb 2010;298(2):R245-53.

18. Roman RJ, Cowley AW, Jr. Characterization of a new model for the study of pressorenatriuresis in the rat. *Am J Physiol*. Feb 1985;248(2 Pt 2):F190-8.
19. Ligtenberg G, Blankestijn PJ, Oey PL, et al. Reduction of sympathetic hyperactivity by enalapril in patients with chronic renal failure. *N Engl J Med*. Apr 29 1999;340(17):1321-8.
20. Converse RL, Jr., Jacobsen TN, Toto RD, et al. Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure. *N Engl J Med*. Dec 31 1992;327(27):1912-8.
21. Schlaich MP, Sobotka PA, Krum H, Lambert E, Esler MD. Renal Sympathetic-Nerve Ablation for Uncontrolled Hypertension. *letter*. <http://dxdoiorg/101056/NEJMcog04179>. 200912-10 2009
22. Krum H, Schlaich M, Whitbourn R, et al. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. *Lancet*. Apr 11 2009;373(9671):1275-81.
23. Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, Bohm M. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet*. Dec 4 2010;376(9756):1903-9.
24. Esler MD, Krum H, Schlaich M, Schmieder RE, Bohm M, Sobotka PA. Renal sympathetic denervation for treatment of drug-resistant hypertension: one-year results from the Symplicity HTN-2 randomized, controlled trial. *Circulation*. Dec 18 2012;126(25):2976-82.
25. Esler MD, Bohm M, Sievert H, et al. Catheter-based renal denervation for treatment of patients with treatment-resistant hypertension: 36 month results from the SYMPLICITY HTN-2 randomized clinical trial. *Eur Heart J*. Jul 2014;35(26):1752-9.
26. Bhatt DL, Kandzari DE, O'Neill WW, et al. A controlled trial of renal denervation for resistant hypertension. *N Engl J Med*. Apr 10 2014;370(15):1393-401.
27. Kandzari DE, Bhatt DL, Brar S, et al. Predictors of blood pressure response in the SYMPLICITY HTN-3 trial. *Eur Heart J*. Jan 21 2015;36(4):219-27.
28. Townsend RR, Mahfoud F, Kandzari DE, et al. Catheter-based renal denervation in patients with uncontrolled hypertension in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED): a randomised, sham-controlled, proof-of-concept trial. *Lancet*. Nov 11 2017;390(10108):2160-2170.
29. Kandzari DE, Bohm M, Mahfoud F, et al. Effect of renal denervation on blood pressure in the presence of antihypertensive drugs: 6-month efficacy and safety results from the SPYRAL HTN-ON MED proof-of-concept randomised trial. *Lancet*. Jun 9 2018;391(10137):2346-2355. 30. Azizi M, Schmieder RE, Mahfoud F, et al. Endovascular ultrasound renal denervation to treat hypertension (RADIANCE-HTN SOLO): a multicentre, international, single-blind, randomised, sham-controlled trial. *Lancet*. Jun 9 2018;391(10137):2335-2345.
30. Franco M, Tapia E, Bautista R, et al. Impaired pressure natriuresis resulting in salt-sensitive hypertension is caused by tubulointerstitial immune cell infiltration in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*. Apr 1 2013; 304(7):F982-90. doi:10.1152/ajprenal.00463.2012
31. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. Sep 21 2017;377(12):1119-1131.
32. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med*. Oct 1 2007; 204(10):2449-60.

33. Crowley SD, Song YS, Lin EE, Griffiths R, Kim HS, Ruiz P. Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. Apr 2010; 298(4):R1089-97.
34. Mattson DL, Lund H, Guo C, Rudemiller N, Geurts AM, Jacob H. Genetic mutation of recombination activating gene 1 in Dahl salt-sensitive rats attenuates hypertension and renal damage. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. Mar 15 2013; 304(6):R407-14.
35. Sun XN, Li C, Liu Y, et al. T-Cell Mineralocorticoid Receptor Controls Blood Pressure by Regulating Interferon-Gamma. *Circulation research*. May 12 2017;120(10):1584-1597.
36. Youn JC, Yu HT, Lim BJ, et al. Immunosenescent CD8+ T cells and C-X-C chemokine receptor type 3 chemokines are increased in human hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. Jul 2013;62(1):126-33.
37. Nguyen H, Chiasson VL, Chatterjee P, Kopriva SE, Young KJ, Mitchell BM. Interleukin17 causes Rho-kinase-mediated endothelial dysfunction and hypertension. *Cardiovascular research*. Mar 15 2013;97(4):696-704.
38. Itani HA, McMaster WG, Jr., Saleh MA, et al. Activation of Human T Cells in Hypertension: Studies of Humanized Mice and Hypertensive Humans. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. Jul 2016;68(1):123-32.
39. Caillon A, Mian MOR, Fraulob-Aquino JC, et al. gammadelta T Cells Mediate Angiotensin II-Induced Hypertension and Vascular Injury. *Circulation*. May 30 2017; 135(22):2155-2162.
41. Barhoumi T, Kasal DA, Li MW, et al. T regulatory lymphocytes prevent angiotensin II-induced hypertension and vascular injury. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. Mar 2011;57(3):469-76.
42. Chan CT, Sobey CG, Lieu M, et al. Obligatory Role for B Cells in the Development of Angiotensin II-Dependent Hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. Nov 2015;66(5):1023-33.
43. Dechend R, Homuth V, Wallukat G, et al. AT(1) receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. *Circulation*. May 23 2000;101(20):2382-7
44. Wenzel P, Knorr M, Kossmann S, et al. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *Circulation*. Sep 20 2011;124(12):1370-81.
45. Kirabo A, Fontana V, de Faria AP, et al. DC isoketal-modified proteins activate T cells and promote hypertension. *The Journal of clinical investigation*. Oct 2014; 124(10):4642-56.
46. Shah KH, Shi P, Giani JF, et al. Myeloid Suppressor Cells Accumulate and Regulate Blood Pressure in Hypertension. *Circulation research*. Oct 23 2015;117(10):858-69.
47. AE N, MS M, DG H. The immunology of hypertension. *The Journal of experimental medicine*. 01/02/2018 2018;215(1)
48. Saleh MA, McMaster WG, Wu J, et al. Lymphocyte adaptor protein LNK deficiency exacerbates hypertension and end-organ inflammation. *The Journal of clinical investigation*. Mar 2 2015;125(3):1189-202.
49. Krishnan SM, Dowling JK, Ling YH, et al. Inflammasome activity is essential for one kidney/deoxycorticosterone acetate/salt-induced hypertension in mice. *British journal of pharmacology*. Feb 2016;173(4):752-65.

50. Norlander AE, Madhur MS. Inflammatory cytokines regulate renal sodium transporters: how, where, and why? *American journal of physiology Renal physiology*. Aug 1 2017;313(2):F141-F144.
51. Mikolajczyk TP, Nosalski R, Szczepaniak P, et al. Role of chemokine RANTES in the regulation of perivascular inflammation, T-cell accumulation, and vascular dysfunction in hypertension. *Faseb j*. May 2016;30(5):1987-99.
52. McMaster WG, Kirabo A, Madhur MS, Harrison DG. Inflammation, Immunity, and Hypertensive End-Organ Damage. *Circ Res*. Mar 13 2015; 116(6):1022-33.
53. Nance DM, Sanders VM. Autonomic Innervation and Regulation of the Immune System (1987-2007). *Brain Behav Immun*. Aug 2007;21(6):736-45.
54. Felten SY, Olschowka J. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen: II. Tyrosine hydroxylase (TH)-positive nerve terminals form synapticlike contacts on lymphocytes in the splenic white pulp. *J Neurosci Res*. 1987;18(1):37-48.
55. Kohm AP, Sanders VM. Norepinephrine and beta 2-adrenergic receptor stimulation regulate CD4+ T and B lymphocyte function in vitro and in vivo. *Pharmacol Rev*. Dec 2001;53(4):487-525.
56. Grisanti LA, Woster AP, Dahlman J, Sauter ER, Combs CK, Porter JE. alpha1adrenergic receptors positively regulate Toll-like receptor cytokine production from human monocytes and macrophages. *J Pharmacol Exp Ther*. Aug 2011;338(2):648-57.
57. Xiao L, Kirabo A, Wu J, et al. Renal Denervation Prevents Immune Cell Activation and Renal Inflammation in Angiotensin II-Induced Hypertension. *Circ Res*. Aug 28 2015;117(6):54757.
58. Santisteban MM, Ahmari N, Carvajal JM, et al. Involvement of bone marrow cells and neuroinflammation in hypertension. *Circ Res*. Jul 3 2015;117(2):178-91.
59. Marvar PJ, Thabet SR, Guzik TJ, et al. Central and peripheral mechanisms of Tlymphocyte activation and vascular inflammation produced by angiotensin II-induced hypertension. *Circ Res*. Jul 23 2010;107(2):263-70.
60. Lob HIM, Marvar PJ, Guzik TJ, et al. Induction of hypertension and peripheral inflammation by reduction of extracellular superoxide dismutase in the central nervous system. *Hypertension*. Feb 2010;55(2):277-83, 6p following 283.
61. Lob HE, Schultz D, Marvar PJ, Davisson RL, Harrison DG. Role of the NADPH oxidases in the subfornical organ in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*. Feb 2013;61(2):382-7.
62. Zaldivia MT, Rivera J, Hering D, et al. Renal Denervation Reduces Monocyte Activation and Monocyte-Platelet Aggregate Formation: An Anti-Inflammatory Effect Relevant for Cardiovascular Risk. *Hypertension*. Feb 2017;69(2):323-331. d
63. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. Dec 15 2012;380(9859):2224-60.
64. Krum H, Schlaich MP, Sobotka PA, et al. Percutaneous renal denervation in patients with treatment-resistant hypertension: final 3-year report of the Symplicity HTN-1 study. *Lancet*. Feb 15 2014;383(9917):622-9.

65. Mahfoud F, Vonend, O., Kintscher, U. et al. Kriterien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Deutschen Hochdruckliga e.V. DHL®/Deutschen Gesellschaft für Hypertonie und Prävention und der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie zur Zertifizierung von „RenaleDenervations-Zentren (RDZ)“ | SpringerLink. *Der Kardiologe*. 2013;7:429-434.
66. Osterberg L, Blaschke T. Adherence to medication. *N Engl J Med*. Aug 4 2005; 353(5):487-97.
67. Azizi M, Sapoval M, Gosse P, et al. Optimum and stepped care standardised antihypertensive treatment with or without renal denervation for resistant hypertension (DENERHTN): a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. May 16 2015;385(9981):1957-65.
68. Mancia G, Parati G, Pomidossi G, Grassi G, Casadei R, Zanchetti A. Alerting reaction and rise in blood pressure during measurement by physician and nurse. *Hypertension*. Feb 1987;9(2):209-15.
69. Mahfoud F, Bohm M, Azizi M, et al. Proceedings from the European clinical consensus conference for renal denervation: considerations on future clinical trial design. *Eur Heart J*. Sep 1 2015;36(33):2219-27.
70. Ewen S, Ukena C, Linz D, et al. Reduced effect of percutaneous renal denervation on blood pressure in patients with isolated systolic hypertension. *Hypertension*. Jan 2015;65(1):193-9.
71. Brooks VL, Shi Z, Holwerda SW, Fadel PJ. Obesity-induced increases in sympathetic nerve activity: sex matters. *Auton Neurosci*. Jan 2015;187:18-26.
72. Tsounis D, Bouras G, Giannopoulos G, Papadimitriou C, Alexopoulos D, Deftereos S. Inflammation markers in essential hypertension. *Med Chem*. 2014;10(7):672-81.
73. Furumoto T, Saito N, Dong J, Mikami T, Fujii S, Kitabatake A. Association of cardiovascular risk factors and endothelial dysfunction in japanese hypertensive patients: implications for early atherosclerosis. *Hypertens Res*. May 2002;25(3):475-80.
74. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. Nov 14 2002;347(20):1557-65.
75. Dorr O, Liebetrau C, Mollmann H, et al. Beneficial effects of renal sympathetic denervation on cardiovascular inflammation and remodeling in essential hypertension. *Clin Res Cardiol*. Feb 2015;104(2):175-84.
76. Eikelis N, Hering D, Marusic P, et al. The effect of renal denervation on endothelial function and inflammatory markers in patients with resistant hypertension. *Int J Cardiol*. Jun 1 2015;188:96-8.
77. Ramer-Quinn DS, Swanson MA, Lee WT, Sanders VM. Cytokine production by naive and primary effector CD4+ T cells exposed to norepinephrine. *Brain Behav Immun*. Dec 2000;14(4):239-55.
78. Swanson MA, Lee WT, Sanders VM. IFN-gamma production by Th1 cells generated from naive CD4+ T cells exposed to norepinephrine. *J Immunol*. Jan 1 2001;166(1):232-40.
79. J W, MA S, A K, et al. Immune Activation Caused by Vascular Oxidation Promotes Fibrosis and Hypertension. *The Journal of clinical investigation*. 2016 Jan 2016;126(1)
80. Hammarlund E, Lewis MW, Hansen SG, et al. Duration of antiviral immunity after smallpox vaccination. *Nat Med*. Sep 2003;9(9):1131-7.